THESIS
KØBENHAVN
1929

UNDERSØGELSER OVER NOGLE STOFFERS HÆMMENDE VIRKNING PAA BAKTERIEVÆKSTEN

AF P. H. ANDRESEN

UCR
UNIVERSITY LIBRARY STANFORD 1930
UNIVERSITETETS·INSTITUT·FOR·ALM·PATOLOGI·
LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

LEVIN & MUNKSGAARDS FORLAG
KØBENHAVN 1929

3788
C78A
Unclassified
Dissertation

UNDERSØGELSER
OVER NOGLE STOFFERS HÆMMENDE VIRKNINGER
PAA BAKTERIEVÆKSTEN

Forsvaret finder Sted Torsdag d. 28. November 1929
Kl. 2 i Anneksauditorium A, Studiestræde 6, o. G.

UNDERSØGELSER

OVER

NOGLE STOFFERS HÆMMENDE VIRKNING PAA BAKTERIEVÆKSTEN

AF

P. H. ANDRESEN

LEVIN & MUNKSGAARDS FORLAG
KØBENHAVN · MCMXXIX

Denne Afhandling er af det medicinske Fakultet antaget til offentlig at forsvares for den medicinske Doktorgrad.

København, den 15. Oktober 1929.

C. Lundsgaard,
h. a. dec.

Printed in Denmark
VALD. PEDERSENS BOGTRYKKERI
KØBENHAVN

FORORD

Disse Undersøgelser er foretaget paa Universitetets Institut for almindelig Patologi og til Dels paa Farmaceutisk Læreanstalts Laboratorium for uorganisk Kemi.

Det er mig en stor Glæde at takke Professor, Dr. med. *Oluf Thomsen* for de gode Arbejdsbetingelser jeg har haft, men især ogsaa for den aldrig svigtende Støtte og Interesse han i disse Aar har ydet mig og som har betydet saa meget for mig. —

Ligeledes skylder jeg Professor, Dr. phil. *C. Faurholt* min hjerteligste Tak for alle de mange lærerige, interessante og altid opmuntrende Timer, hvor han har vejledet mig i de forskellige kemiske Spørgsmaal mit Arbejde førte mig ind paa.

En særlig Tak vil jeg rette til Professor, Dr. med. *H. Braun,* Frankfurt a/M., for hans personlige Vejledning i sin specielle Metodik, der har haft stor Betydning for mine Undersøgelser.

INDHOLD

Side

Oversigt over visse Sider af Desinfektionslærens Udvikling 9
Egne Undersøgelser:
Indledning 39
Om Næringssubstrater til bakteriologisk-kemiske Undersøgelser ... 45
Om Maaling af Bakteriers Vækst 52
Om Nephelometri, et nyt Nephelometer 56
Sammensætningen af de anvendte Substrater og Maalinger af Væksten i disse 65
Undersøgelser over Væksthæmning:
Iagttagelsesmaterialet 79
Undersøgelser over Natriumbenzoatets væksthæmmende Virkning, tidligere Undersøgelse 85
Egne Undersøgelser over Natriumbenzoatets Væksthæmning 88
Undersøgelse over Sølvsaltenes Væksthæmning 99
Den elektrometriske Bestemmelse af Sølvjonen 102
Sølvsaltenes Væksthæmning I 117
Sølvsaltenes Væksthæmning II (med ny Teknik) 123
Resumé 130
Litteraturfortegnelse 132

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/undersogelsurove0000phan

Inden jeg gaar over til Omtalen af mine Forsøg over Vækst-hæmning og Grundlaget for disse, vil jeg søge at give en Oversigt over Udviklingen af dette Spørgsmaal. Væksthæmningen maa betragtes som et Led i Desinfektionslæren, og mange af de Problemer, den omfatter, staar i saa nært Forhold til de øvrige Former af Desinfektion, at det til Forstaaelsen vil være nødvendigt ogsaa at betragte Udviklingen af disse. Det er væsentlig den kemiske Desinfektion, der her er af Betydning, men da hele Udviklingen i saa høj Grad hviler paa den fysiske Sterilisation, vil ogsaa dennes tidligste Historie blive omtalt.

Selve Ordet Desinfektion[1]) er først anvendt af forskellige franske og engelske Forfattere i Slutningen af det 18ende Aarhundrede; de forstod herved alle Foranstaltninger til at bekæmpe Epidemiers Udbredning. I Begyndelsen af Bakteriologiens Udvikling defineredes Begrebet ikke skarpere, men blev i Tilslutning til Listers Saarbehandling mere udvisket efter Indførelsen af Begrebet Antiseptik. Først *Robert Koch*[2]) afgrændsede Ordets Betydning skarpt, idet han ved Desinfektion omfattede en Uskadeliggørelse af alle levende Sygdomsfremkaldere indenfor et bestemt Omraade. Samtidig forstod han ved Sterilisation: en fuldstændig Tilintetgørelse af alle levende Kim, og ved antiseptisk Virkning: en Hæmning af Bakteriernes Vækst. Disse Definitioner er siden bevaret, trods enkelte Forsøg paa at give Begrebet Desinfektion et andet Indhold.

Det blev i Kampen for at modbevise, at generatio spontaneae eksisterer, at de første Forsøg, med virkelig Forstaaelse af Hensigten, blev foretaget for at opnaa en sikker Udryddelse af alle levende Væsner, selv de mikroskopiske, indenfor et bestemt Omraade og uden dettes Tilintetgørelse.

I 1742 fremlagde den engelske Abbed *Needham*[3]) nogle Undersøgelser, der skulde vise, at levende Kim kunde opstaa uden Tilstedeværelse af andre levende Organismer. Trods Kogning af et Infus i en Flaske og trods paafølgende Tillukning fandt han dog efter nogen Tid mikroskopiske levende Organismer i Vædsken. Han mente derfor at have vist, at de levende Kim maatte være opstaaet af selve Stofferne i Infuset.

Mange tvivlede dog om Rigtigheden af denne Forklaring, og i 1769 viste *Spallanzani*[4]), at der aldrig fandtes levende Kim, selv ved stadig Henstand, naar blot Kogningen varede tilstrækkelig længe, og saafremt Luftens Adgang til den kogte Vædske fuldstændig hindredes. I Virkeligheden kan disse Forsøg betegnes som den første Sterilisation af et Næringssubstrat, og dermed var egentlig Grundlaget for Studier af Bakterierne givet. Der skulde dog gaa 100 Aar, før dette Skridt blev foretaget.

Medens Forsøgene ikke havde overbevist Samtidens Videnskabsmænd, udnyttedes deres Resultater snart til praktiske Formaal, idet Franskmanden *Appert*[5]) blev i Stand til at udforme sin Metode til Konservering af Næringsmidler, en Metode hvoraf hele den moderne Konservering har udviklet sig.

I 1836 forsøgte *Frantz Schulze*[6]) og 1837 *Th. Schwan*[7]) med ny Teknik at afgøre Spørgsmaalet, men hverken ved deres eller ved de af *Schroeder* og *Dusch*[8]) udførte Forsøg lykkedes det at faa Troen paa generatio spontaneae slaaet ned. Først ved *Pasteurs*[9]) Arbejder lykkedes det fuldstændig at fastslaa, at generatio spontaneae aldrig var iagttaget. Jeg vil ikke gaa nærmere ind paa disse Forsøgs Teknik, ligesom jeg ikke vil følge Varmesterilisationens Historie; der gik jo endnu en Del Aar, inden man naaede den fuldstændig sikre Sterilisation.

Det var nu muligt at fremstille Vædsker, hvori ingen levende Organismer fandtes, og, hvad der i dette Sammenhæng er af særlig Betydning: man havde herved et Middel til at paavise, at der paa et givet Objekt fandtes Bakterier, idet disse kunde udvikle sig til paaviselige Mængder, saafremt Objektet blev nedlagt i en saadan næringsholdig Vædske.

Medens saaledes den fysiske Sterilisation har gennemgaaet en meget retlinjet og klar Udvikling i de sidste 150 Aar, er den

kemiske Desinfektions Historie før Bakteriologiens store Fremgang præget af Uvidenheden om det Formaal, man arbejdede mod. Allerede i Oldtiden og Middelalderen har man søgt at bekæmpe Epidemier og ligeledes Forraadnelse med kemiske Midler, men Valget af de anvendte Midler var ofte ret tilfældigt, og Virkningen var oftest meget ringe. Naar jeg alligevel kort vil omtale disse Forhold, skyldes det, at de anvendte Midler, trods deres ringe Virkning, har haft stor Indflydelse paa Desinfektionens senere Udvikling. —

Tiltrods for det manglende Kendskab til Bakteriernes Eksistens, har den Tanke flere Gange været fremsat, at Epidemier opstod ved Smitte af levende Kim fra de Syge. Man søgte derfor ogsaa tidligt at bekæmpe de smitsomme Sygdomme ved Foranstaltninger, der skulde hindre en saadan Overførelse.

De første Foranstaltninger af denne Art, ihvertfald med denne Motivering, synes foretaget af den venetianske Republik i Slutningen af det 17ende Aarhundrede[10]), da »Pesten« nærmede sig. Man anvendte dels Karantæne af Folk, der kom fra angrebne Egne, dels Røgning eller Brænding af de medbragte Varer. Det hjalp dog intet, og »Pesten« bredte sig ud over hele Europa.

Undersøger man Udviklingen af disse Foranstaltninger gennem Aarene, vil man se, at der saa godt som ingen Fremskridt sker, før den nuværende Desinfektionslære grundlægges af *R. Koch* 1881.

Sammenligner man de Forordninger, der er givet her i Landet for at hindre Epidemiers Udbredning i 1624, 1654[11]) og 1711[12]) med de tilsvarende i 1831 og 51[10]) finder man ingen væsentlig Forskel. Selv den tyske Kolerakommission maa i 1878 indrømme, at Midlerne til Hindring af Epidemiers Udbredning ved Desinfektion ikke var blevet væsentlig bedre.

De Midler man anvendte var Røgning med Svovl, Klor, Salpetersyre og Enebærtræ, Afvaskning med Eddike, Sæbelud og Klorkalkvand.

Ligesom det var *Pasteur* der gav Sterilisation ved Kogning sin store Betydning, var det *Pasteur*'s Paavisning af Mikrobernes Virkninger, der gav Anledning til den kemiske Desinfektions

store Opsving. Paavirket af *Pasteur*'s Undersøgelser antog *Lister,* at det var Bakterier, der ligesom ved Gæring og Forraadnelse fremkaldte Saarsygdommene. Da han derfor en Gang havde haft Lejlighed til at se, hvorledes Karbolsyre kunde hindre Forraadnelse, forsøgte han, om ikke Anvendelsen af Karbolsyre til Forbindingerne kunde hindre Saarsygdomme. Det lykkedes ham fuldstændigt at forandre Saarforløbet, og dette medførte den største Forandring i Lægevidenskaben, der nogensinde har fundet Sted.

At *Lister* er den egentlige Grundlægger af Antiseptiken kan ikke bestrides, men at andre før ham havde søgt de samme Veje, maa dog ogsaa omtales.

Ser man først paa selve Karbolsyrens Historie, vil man finde, at allerede Opdageren af dette Stof *Runge*[13]) i 1834 paaviste, at Tilsætning af denne Forbindelse hindrede Kød, Mælk og Urin i at gaa i Forraadnelse, hvis Kødet allerede var i Forraadnelse, ophørte det at lugte.

I 1865 paaviste *Lemaire*[14]), at Karbolsyren kunde dræbe Miltbrandbakterier, og han forsøgte, uden Held, en Behandling af Miltbrand med Karbolsyre.

Den Mand, der før *Lister* med klar Forstaaelse af Formaalet, har anvendt Antiseptik er Østrigeren *Semmelweis.* Han indførte paa den Fødeafdeling, han ledede, ved Anvendelse af Klorkalkvand en antiseptisk Behandling, som han kombinerede med stor Renlighed. Hans Metode, som i Virkeligheden overgik Listers, fremkom før Verden var blevet overbevist om Bakteriernes Betydning gennem Pasteurs Arbejder, og det lykkedes derfor ikke at føre denne glimrende udtænkte Behandling udenfor hans egen Afdeling.

Lister blev saaledes den egentlige Grundlægger af den kemiske Desinfektion, og i de første Aar udviklede den sig ogsaa i nær Tilknytning til Kirurgien, ligesom hele den senere Udvikling har været præget af denne Oprindelse. Med det Kendskab, man nu har til Karbolsyrens Virkninger, maa man undre sig over, at det virkelig lykkedes fuldstændig at revolutionere Kirurgien ved Hjælp af dette Stof. At man undrer sig nu, skyldes dog maaske nok mest, at man i Nutiden meget vanskeligt kan

forestille sig i hvilken Grad Kirurgien var behersket af Bakteriernes Angreb.

Det varede ikke mange Aar, før man opdagede, at Karbolsyrens Virkninger ikke svarede til det, man havde tænkt; men nu var Vejen brudt, og medens Karbolsyrens Betydning svandt, skred Kirurgien hurtigt frem ad den banede Vej. Jeg vil nu slutte Omtalen af Desinfektionens Tilknytning til Kirurgien og gaa over til mit egentlige Emne: den videnskabelige Bakteriologis Studie af den kemiske Desinfektion, dels for at kunne stille sine Resultater til Disposition for den praktiske Anvendelse, dels for at naa til en Forstaaelse af de biologiske og kemiske Processer, der foregaar.

Det første Arbejde af Betydning for Desinfektionslæren fremkom 1874 af *L. Bucholtz.*[15]) De Forsøg, der er foretaget før hans, har den store Mangel, at Definitionen af den indtraadte desinficerende Virkning var meget ubestemt. Saaledes blev i nogle Arbejder af *Barker*[16]) Desinfektionen anset for fuldstændig, saafremt Forraadnelseslugten ophørte, medens andre nøjedes med endnu løsere Tegn som Koagulation, Misfarvning af Lakmos. I et Arbejde af *Dougal*[17]) 1872 anvendtes mikroskopisk Undersøgelse af Vædsken, og Desinfektionen betragtedes som gennemført, saafremt man ikke mere kunde paavise Bakterier i selve Vædsken. Om de undersøgte Stoffer var i Stand til at dræbe Bakterierne, fik man ved disse Metoder intet at vide om, hvorimod Forsøgene nok kunde anvendes til Bedømmelsen om, der havde fundet en Væksthæmning Sted. Endnu en stor Mangel rummede disse Forsøg, idet de Organismer, man søgte at paavirke, var af meget uensartet Karakter, ofte en Blanding af Skimmel, Bakterier og Infusorier.

Bucholtz indsaa alle disse Fejl og søgte at undgaa dem. Han opstiller med ualmindelig Klarhed Forsøgsbetingelserne, og man maa beundre de Resultater, han naaede trods den bakteriologiske Tekniks ringe Udvikling.

Først ændrede han de anvendte Næringssubstrater, som havde været meget uensartede Infuser af helt ukendt Sammensætning. Han anvendte mineralske Substrater, nærmest af samme Sammensætning som *Pasteur* havde angivet. Dernæst søgte han

at anvende et mere ensartet Indhold af Mikroorganismer; her naaede han dog kun lidt, idet man endnu ikke kendte nogen sikker Maade til at opnaa Renkultur. Han anvendte Tilførslen af en bestemt Mængde Kim til de enkelte Kulturer, idet han overførte 1 Draabe af et Tobaksinfus i Forraadnelse til hver. Selv om saaledes hans Kulturer var mere ensartede end de tidligere Undersøgeres, har ogsaa hans Forsøg den Fejl, at de er udført med ret tilfældige Saprofyter.

Det store Fremskridt ved hans Arbejde er hans klare Definition af sit Formaal; for det første ønsker han at bestemme den mindste Mængde af Stof, der hindrer synlig Vækst i hans Næringssubstrat efter Tilsaaninger; for det andet ønsker han at bestemme den mindste Mængde af samme Stof, som paavirker Bakterierne i en af hans Kulturer i kraftig Vækst saaledes, at de ved Overførelse i et nyt Substrat ikke formere sig. Han har herved tydelig adskilt Væksthæmning og Desinfektion og indført at anvende Bakteriernes Evne til at formere sig som Tegn paa deres levende Tilstand, en Bedømmelsesmetode, der senere stadig er anvendt. Han har undersøgt en Mængde Stoffers desinficerende Evner; de enkelte Resultater vil jeg ikke omtale, men kun berøre det Punkt, hvor den forfinede Teknik viste, at de hidtil antagne Virkninger slet ikke fandtes. Han finder, at først 4 % Karbolsyre kan fremkalde Desinfektion, medens de sædvanlig anvendte Koncentrationer ikke kan virke dræbende paa Bakterierne.

Et godt Billede af Desinfektionslærens Stade før *Robert Koch*'s Arbejder giver *A. Wernich*[18]): Grundriss der Desinfectionslehre, der udkom 1880. Denne Bog indeholder en god Oversigt over Desinfektionens Historie; han fremhæver, at den praktiske kemiske Desinfektion endnu staar paa et meget usikkert Grundlag, og at man i det hele ikke er naaet meget videre end før Bakteriologiens Opblomstring. Ved Omtalen af de videnskabelige Desinfektionsundersøgelser slutter han sig nær til Bucholtz, men gør for første Gang opmærksom paa den Betydning Varigheden af det desinficerende Stofs Indvirkning paa Bakterierne har, og den Betydning Antallet af Bakterierne rummer.

Den store Optimisme angaaende Desinfektionens Betydning, som herskede fra Begyndelsen af den Lister'ske Periode, var efter den forbedrede Teknik gaaet over til en stor Skepsis overfor de hidtil anvendte Midlers antiseptiske Egenskaber.

Saa meget større Betydning fik derfor *Robert Koch*'s Undersøgelser[2]), hvorved han grundlægger en videnskabelig Metode til Studiet af Desinfektionsvirkningerne.

Naar det lykkedes *Robert Koch* at standse den Usikkerhed, der herskede ved Desinfektionsundersøgelserne, skyldes det især den Klarhed, hvormed han saa Bakteriologiens endnu meget uudviklede Stade. Han stillede derfor de strengeste Fordringer for at anerkende, at et Stof var desinficerende, strengere end det i mange Tilfælde var nødvendigt, hvad senere Undersøgelser har vist, og hvad han allerede selv ventede. At hans Undersøgelser i det hele taget blev mulige, skyldes de tekniske Fremskridt i den almindelige Bakteriologi, han selv havde skabt, og da især hans Metode til Rendyrkning af Bakterier.

Hans Forsøg afviger fra alle tidligere ved 1) at Undersøgelsen foretages paa Renkulturer; helst anvendes Bakterier, der sikkert og let kan kendes, og som ikke let forekommer som Forurening. 2) Forsøgene foretages paa faste Substrater, hvorved Forsøgets »Renhed« yderligere garanteres. 3) Anvendelsen af sporeholdige Bakterier, da man vidste, at disse var de mest resistente. Dette ansaa *R. Koch* for en nødvendig Fordring, idet man paa dette Tidspunkt ikke vidste hvilke Bakterier, der dannede Sporer, og nærmest ventede at alle patogene Bakterier gjorde dette.

Til Undersøgelsen af et Stofs desinficerende Evne fordrede han følgende Undersøgelser a) Bestemmelse om Stoffet kan dræbe alle patogene Kim, hvilket han mente var Tilfældet, hvis Miltbrandsporer kan dræbes. b) Bestemmelse af Virkningen paa mindre resistente Organismer d. v. s. de vegetative Former af Bakterierne. c) Bestemmelse af Stoffets Evne til at hæmme Bakteriernes Vækst. De sidste Undersøgelser tillagde *R. Koch* ringe Betydning, men henleder dog Opmærksomheden paa deres Betydning for Konservering af Madvarer.

Ved alle saadanne Forsøg maa der tages Hensyn til 1) Stoffets *Koncentration,* 2) den *Tid* Indvirkningen varer, 3) den *Temperatur,* hvorunder Forsøget foretages, endelig maa man kende 4) *Opløsningsmidlets Indvirkninger* og 5) eventuelle *forberedende Processers* Indvirkning paa Bakterierne.

Paa Grundlag af disse Fordringer udformer han sin Teknik og foretager en meget omfattende Undersøgelse over talrige Stoffers desinficerende Evner. Den nærmere Teknik og de enkelte Resultater vil jeg ikke omtale, da det ligger udenfor dette Arbejdes Omraade.

Betydningen af hans Resultater var for Samtiden: den endelige Vurdering af de mange Stoffer, der var blevet anvendt til Desinfektion. Han fandt, at de fleste af disse var uden Virkning under de Betingelser, hvorunder de anvendtes (især Phenol, Svovlsyrling og Klorzink), kun enkelte, særlig Sublimat, var meget virkningsfulde. For Eftertiden ligger Betydningen ikke i de enkelte Resultater, men i selve hans Metode, hvorved det blev muligt at foretage Undersøgelser, der var let reproducerbare, og hvor en Sammenligning mellem forskellige Undersøgelser var mulig. At mange Detailler senere er ændret, vil Omtalen af senere Forsøg vise, men Metodens Helhed er bevaret og danner til Stadighed Grundlaget for al Desinfektionsforskning.

Jeg har nu fulgt Desinfektionslærens Historie indtil *Robert Koch*'s Arbejder og beskrevet det Grundlag for Desinfektionsforsøg, han har skabt. Jeg vil derefter gaa over til at belyse den senere Udvikling af de enkelte Problemer indenfor Desinfektionsprocesserne. Det er dog ikke min Hensigt at give en fuldstændig Oversigt herover, jeg vil blot søge at vise de Retningslinjer, Udviklingen har fulgt. Mange Spørgsmaal vil jeg kun strejfe, og kun de, der har Betydning for Hæmningsforsøgene, vil jeg gaa nærmere ind paa.

De første Forsøg, der førte til en Forfinelse af den Kochske Teknik, var de af *Geppert*[19]) [20]) [21]) udførte Undersøgelser. De viste, at de Bakterier man ved Desinfektionsforsøgene ansaa for dræbte, i mange Tilfælde atter kunde bringes i Vækst, saafremt man ved kemiske Midler fjernede den Rest af det giftige Stof,

der fandtes i Bakterierne. Dette Forhold gjorde sig i særlig Grad gældende hos Bakterier, der var paavirkede af Sublimat. De senere talrige Undersøgelser over dette Spørgsmaal vil jeg ikke omtale, idet Virkningen ikke spiller nogen Rolle ved Vækst-hæmningsforsøg, selv om den har stor Betydning for Desinfektionsforsøgene. Ligeledes vil jeg forbigaa de talrige Undersøgelser, der er foretaget for at finde den mest hensigtsmæssige Maade at udsætte Bakterierne for det desinficerende Stof; kun vil jeg fremhæve, at den af *Geppert*[19]) angivne Suspensionsmetode, hvor Bakterierne opslemmes i selve den desinficerende Opløsning, er den Form, hvorved Desinfektionsforsøgene mest nærmer sig Vækst-hæmningsforsøgenes Betingelser. Der vil dog ogsaa være Grund til at fremdrage, at Diskussionen af dette Spørgsmaal i ualmindelig Grad viser, hvor megen Uklarhed, der opstaar, naar man ved samme Metode vil finde den mest praktiske Fremgangsmaade og samtidig videnskabeligt udrede de Processer, der foregaar ved Desinfektionen.

I 1894 fremkom det næste Arbejde over Desinfektionsprocesserne, der omfattede de af *v. Behring*[22]) [23]) gennem flere Aar udførte Forsøg. Medens *Koch* søgte at indskrænke Indholdet af Desinfektionsbegrebet til kun at omfatte de Processer, der sikkert kunde uskadeliggøre alle patogene Kim (d. v. s. kunde dræbe de mest modstandsdygtige, Miltbrandssporerne) søgte v. Behring at udvide Betydningen til at omfatte alle Midler, der modvirker infektiøse Processer. Da han samtidig udvidede Infektionsbegrebet til at omfatte alle Processer, der har samme kliniske eller patologisk-anatomiske Billeder som de, der er fremkaldt af Bakterier, kan man forstaa, at Desinfektionsbegrebet efter hans Definition blev meget omfattende. Hele denne Opfattelse har dog aldrig faaet Fodfæste, og Robert Kochs Inddeling er stadig den almindelig anvendte.

Den Betydning, *v. Behrings* Arbejder har haft paa dette Omraade, ligger i hans Undersøgelser over Vækst-hæmning. Som Følge af hele sin Opfattelse af Desinfektion lagde han særlig Vægt paa, at Bakterierne kunde dræbes *i* den angrebne Organisme. Han fordrede derfor, at Desinfektionsundersøgelserne skulde efterligne Forholdene i Organismen. For at opnaa dette indførte

han: altid at opløse det desinficerende Stof i Serum eller serumholdigt Substrat og bestemme Virkningen ved Væksthæmningsforsøg. Han var selv klar over, at Forsøgene herved kompliceres meget og viser dette ved en Række udmærkede Forsøg. Særlig viser han den store Betydning ved Undersøgelsen af Kvægsølvsalte og andre Metalsalte, saaledes som det vil blive omtalt senere. Da han mener, at den anvendte Fremgangsmaade giver de betydningsfuldeste Resultater, søger han ikke at undgaa Vanskelighederne, og han angiver et Stofs desinficerende Evne ved den mindste Koncentration i Oxeserum, der hindrer Miltbrandspores Vækst heri.

Hele *v. Behrings* Arbejde paa dette Omraade hviler paa den Tanke, at en kemisk Therapi vil være let at opnaa; da dette absolut ikke har vist sig at være Tilfældet, bliver Betydningen af hans Resultater ret ringe. Man maa nærmere hævde, at den Optimisme, som fra Begyndelsen af Chemotherapien har været Ledesnoren ved de anstillede Forsøg, har hindret, at man tidligere har søgt ved simpelt udformede Forsøg at trænge nærmere ind paa de kemiske Processer, der foregaar ved Væsthæmningsforsøg.

Det maa omtales, at han indfører Begrebet relativ Giftighed som et Udtryk for Forholdet mellem et Stofs Giftighed for Bakterierne og for Forsøgsdyrene. *Giftighed: Desinficerende Evne = relativ Giftighed.* Han bestemte denne Størrelse for mange Stoffer og fandt Forholdet lig ca. 6, medens det for et anvendeligt chemotherapeutisk Stof maa være mindre end 1.

For de egentlige Desinfektionsforsøg har Udviklingen formet sig anderledes. Den Udformning og nøjagtige Definition af Forsøgene paa det Kochske Grundlag, som *Paul* og *Kroenig*[24]) [25]) indførte ved deres Metode, har givet Anledning til talrige Arbejder, der søger nærmere at klarlægge Desinfektionsprocesserne. Allerede inden deres Afhandling var der fra forskellig Side paavist, at man maatte tage mere Hensyn til mange af Enkelthederne ved den Kochske Teknik, saaledes de omtalte Forsøg af Geppert[19]) [21]), endvidere Forsøg af *Esmarch*[26]), der paaviser den forskellige Resistens af en Del Miltbrandstammer og den Forandring, de kan undergaa ved Opbevaring.

Paul og *Kroenig* indleder med at opstille saadanne Fordringer til Forsøgene, at det efter deres Mening er muligt at opnaa Resultater, hvorved de forskellige Desinfektionsforsøg kan sammenlignes. De samler disse i 8 Punkter, som jeg vil gengive her, da de stadig senere har været Grundfordringerne til alle Desinfektionsforsøg, og da de fleste ogsaa er af Betydning for Vækst-hæmningsforsøgene:

1) Anvendelsen af equimolære Opløsninger.

2) Anvendelsen af Bakterier med samme Resistens.

3) Anvendelsen af samme Antal Bakterier.

4) Bakterierne maa overføres i den desinficerende Vædske uden at noget af Næringssubstratet føres med.

5) Forsøgene maa foretages ved samme Temperatur.

6) Efter Desinfektionen maa Bakterierne fuldstændig befries for det desinficerende Stof.

7) Bakterierne maa derefter overføres i en bestemt Mængde af samme Næringssubstrat ved den samme Temperatur, og saaledes at det bliver optimale Betingelser for Bakterierne.

8) Antallet af endnu levende Kim maa bestemmes.

Den første Fordring er absolut naturligt Krav med den nuværende Udvikling af Kemien, og man maa undre sig over, at den endnu ikke helt har gennemtrængt den biologiske Kemi; Aarsagen hertil er sikkert ogsaa mest de lidt mere omfattende Beregninger, som derved bliver nødvendige. Dette saavel som de næste Punkter gælder baade for Desinfektionsforsøg og Hæmningsforsøg, de maa blot opfyldes paa forskellig Maade. Den anden Fordring er absolut nødvendig, men kan kun sikkert opfyldes, hvis alle Forsøg, der skal sammenlignes, udføres samtidig. Naar dette ikke kan lade sig gøre, maa hver Forsøgsrække ledsages af et Kontrolforsøg, hvor man altid under samme Betingelser undersøger den anvendte Bakteries Resistens overfor et bestemt Stof. Den tredie Fordring blev opstillet paa Grundlag af nogle Forsøg af *Geppert*[20]), der viste, at ikke alle Miltbrandsporerne dræbes samtidig. Et Forhold som *Paul* og *Kroenig*'s Forsøg i høj Grad bekræftede.

At intet af det Næringssubstrat, hvorpaa Bakterierne har vokset, maa føres med over i Desinfektionsvædsken begrunder

man med den Forandring Desinfektionsevnen herved undergaar, et Forhold man længe havde kendt, men som var traadt stærkt i Forgrunden efter v. Behrings Forsøg over Kvægsølvsaltenes Virkning i serumholdige Næringssubstrater.

Nødvendigheden af at foretage Forsøgene ved bestemt Temperatur var allerede tidligere paavist og var derfor en naturlig Fordring.

De sidste 3 Fordringer har ingen Betydning for Væksthæmningsforsøgene. Den 6te er allerede tidligere omtalt (*Geppert*[19]), den 7ende har til dels samme Aarsag. Denne Fordring er af meget stor Betydning, idet Paul og Kroenig gennem den definerer, hvad de forstaar ved fuldstændig Desinfektion. De mener saaledes ikke at kunne bestemme, om Bakterierne er døde, men de bestemmer den Paavirkning, der hindrer Bakterierne i senere at kunne formere sig under de givne »optimale« Betingelser.

Endelig giver den sidste Fordring Lejlighed for Fremskaffelsen af et meget større Iagttagelsesmateriale, hvilket viser sig at faa stor Betydning.

Ud fra dette Grundlag udformer de deres Teknik og undersøger et stort Antal forskellige Stoffers desinficerende Virkning. Jeg vil kun omtale Hovedresultaterne af de mange Forsøg. Ved Undersøgelsen af et Stofs Desinfektionsevne er det ikke blot Koncentrationen af dette Stof, der er varieret, men ogsaa den tidsmæssige Følge, hvorunder Desinfektionen forløber, er nøje bestemt. Som jeg allerede har omtalt er dette muligt, da ikke alle Bakterier dræbes samtidig, og man kan derfor med Mellemrum bestemme, hvor mange der endnu er spiringsdygtige.

Til Forstaaelse af de undersøgte Stoffers desinficerende Virkning er det især deres Paavisning af den elektrolytiske Dissociations Indflydelse, der har faaet Betydning. For Metalsaltene viser de, at den desinficerende Virkning kun er afhængig af Koncentrationen af Metaljonerne, medens den absolutte Mængde af Metal i Opløsningen er uden Betydning.

Medens de fleste af Forsøgene er foretaget i rene vandige Opløsninger, har *Paul* og *Kroenig* dog ogsaa undersøgt Virkningen ved Opløsning af det desinficerende Stof i Bouillon, Gelatine Serum, for at følge den Forandring i Giftigheden, som der-

ved fremkom. De fandt herved, at nogle Stoffer, særlig de stærkt oxyderende, helt mistede deres Desinfektionsevne, medens andre, især Metalsaltene, kun svækkedes, og endelig blev nogle paavirkede meget lidt, f. Eks. Phenol.

Sammenholdt med v. Behrings Forsøg giver disse en god Oversigt over Mediets Betydning i Desinfektionsforsøgene. Herved belyses klart Aarsagen til, at v. Behring i Modsætning til Paul og Kroenig finder at alle Kvægsølvsalte har samme desinficerende Evne, blot de er tilstrækkelig opløselige. I v. Behrings Forsøg bindes alt Kvægsølv til Albuminstofferne, og Virkningen bliver kun afhængig af Bindingens Art, medens det er af ringe Betydning, hvilket Kvægsølvsalt, der er tilsat. I Paul og Kroenigs Forsøg i vandig Opløsning vil Virkningen derimod udelukkende være afhængig af den Mercurijonskoncentration Kvægsølvsaltets Dissociation fremkalder.

Paul og Kroenig har endelig foretaget en mindre Række Væksthæmningsforsøg, og de faar af dem det Indtryk, at Dissociationen ikke spiller nogen Rolle her, hvilket de især støtter paa det Forhold, at det meget komplexe, lidet dissocierede Kaliumskvægsølvcyanid er mere væksthæmmende end Sublimat. Dette Spørgsmaal vil jeg senere vende tilbage til.

Noget umiddelbart Maal for Desinfektionsevnen opnaar man ikke ved Paul og Kroenigs Metode. Af Resultaterne af Forsøg, der er udført under de samme ganske bestemt definerede Omstændigheder, kan man faa et godt Billede af Forholdet mellem Desinfektionsevnen i de forskellige Forsøg; men dette alene er et meget lidt tilfredsstillende Resultat.

Det var derfor et Fremskridt, da *Madsen* og *Nymann*[27]), dels paa Grundlag af Paul og Kroenig, dels ved nye Forsøg, viste, at Bakteriernes Afdøen fulgte en bestemt Ligning. $\frac{dx}{dt} = K (a \div x)$, hvor a er Antallet af Bakterier fra Forsøgets Begyndelse, $(a \div x)$ Antallet af endnu levende Kim efter Tiden t, x bliver derfor Antallet af afdøde Bakterier, og K er konstant. Da Forsøgene opfylder denne Ligning, og K derved bliver en virkelig Konstant, ses det, at dennes Størrelse giver et Udtryk for Desinfektionens Forløb. Allerede i Tilslutning til selve Paul

og Kroenigs Afhandling havde Ikeda[28]) forsøgt at opstille en Ligning over Tidsfølgen af Bakteriernes Afdøen, men Forsøgsresultaterne følger ikke denne Formel saa nær, som de følger den, der er opstillet af Madsen og Nymann.

Dette Spørgsmaal har senere været Genstand for mange Undersøgelser[27—34], og Tydningen af Resultaterne har været Aarsag til megen Diskussion. Fælles for alle Arbejder er den Opfattelse, at den Ligning, der er opstillet af Madsen og Nymann, gælder i de fleste Tilfælde, men at der dog findes en Del Undtagelser. Kun en enkelt Undersøger[29]) mener slet ikke, at Forholdene ligger saaledes. Hans Tvivl fremkommer, da Ligninger slet ikke opfyldes, saafremt man af Forsøgene bestemmer Antallet af afdøde Kim (x) i Stedet for Antallet af endnu levende Bakterier (a ÷ x). At dette er Tilfældet skyldes dog væsentlig, at Fejlen ved Bestemmelsen af Antallet af døde Bakterier maa blive meget stor, idet alle de Unøjagtigheder Metoderne rummer herved ophobes i een Retning.

I ingen af de Tilfælde, hvor man har fundet afvigende Resultater, har der været anvendt Miltbrandsporer. Derimod er der i et Tilfælde anvendt en anden sporedannende Bakterie[33]), i andre Tilfælde meget unge Bakterier og endelig en Del forskellige andre Bakterier. Bortset fra disse Undtagelser finder man, at Ligningen gælder ikke blot ved kemisk Desinfektion, men ogsaa i mange Tilfælde ved Varmedesinfektion. Nogen egentlig Enighed om, hvorfor Bakteriernes Afdøen følger disse Kurver, er hidtil ikke opnaaet, selv om alle slutter sig til den Opfattelse, at de enkelte Bakteriers forskellige Resistens er af væsentlig Betydning. Saaledes henviser allerede Madsen og Nymann til det tidligere omtalte Arbejde af Geppert[20]), hvor han behandler dette Spørgsmaal.

Reichenbach[33]) har i særlig Grad søgt at klarlægge, hvorfor de enkelte Bakterier har den forskellige Resistens, og netop saaledes, at den anførte Ligning maa følges. Han viser, at den almindelige Lov for biologiske Variationer ikke kan forklare disse Forhold. Han mener at kunne vise, at de enkelte Bakteriers Vækstfase er af afgørende Betydning. Jeg vil ikke fordybe mig mere i dette Spørgsmaal, men blot fremhæve, at det endnu ikke

er lykkedes experimentelt direkte at paavise den individuelle Resistanceforskel hos Bakterierne.

At anvende Konstanten K som Maal for Desinfektionsevnen, saaledes som det oprindelig opfattedes i Madsen og Nymanns Arbejde, er ikke tilladelig, idet den kun er Udtryk for en enkelt Side af Desinfektionsprocesserne.

Til Bedømmelsen af Desinfektionsevnen maa man kende Forholdet mellem Desinfektionsintensiteten (J), og den Tid (T), der er nødvendig for en veldefineret Afdøen af alle Bakterierne. Man vil vente, at Produktet J—T maa være konstant, idet Tiden maa blive kortere, naar Intensiteten stiger, et Forhold, der er vist ved mange biologiske Processer. Man maa yderligere vente, at Intensiteten maa være afhængig af det desinficerende Stofs Koncentration eller en Funktion af denne, som vil kunne udtrykkes ved en anden Konstant. Som det nærmere er fremstillet af Reichel[31]) [35]), kan man forvente, at denne Konstant maa være potentiel; som Udtryk for Desinfektionen har han derfor opstillet følgende Formel.

$T\ C^k = K$ og han og flere andre har fundet, at man saaledes kan opnaa et godt Billede af Processen. Som allerede Paul og Kroenig har fremhævet, vil det ofte være vanskeligt at bestemme Tidspunktet T for den absolute Afdøen. Reichel fremhæver derfor ogsaa, at man isaafald vil kunne faa denne Størrelse mere veldefineret ved at udstrække Forsøgene til ogsaa at bestemme Bakteriernes Afdøen efter Madsen og Nymanns Ligning.

Herhjemme har *J. P. Gregersen*[36]) søgt at bestemme de to Konstanter for forskellige Stoffer og fundet god Overensstemmelse mellem sine Forsøg og Ligningen. Den Konstant, der er af særlig Interesse for Forstaaelsen af Desinfektionsprocesserne, er k, og denne fandt han = 1 for Saltsyre, Formalin og Jod-Jodkalium, medens den for Phenol, Tymol og Chloralhydrat fandtes = 4.

Naar man kender de to Konstanter, vil det være muligt at beregne, hvorledes et Desinfektionsforsøg vil forløbe, men noget Udtryk, hvorved de 2 desinficerende Stoffer direkte kan sammenlignes, har man ikke. Dette er imidlertid heller ikke muligt, man kan maale, hvorledes flere Stoffers Virkning forholder

sig til hinanden under bestemte Omstændigheder overfor en bestemt Bakterie, men herfra kan man ikke slutte noget om, hvorledes de vil forholde sig under andre Omstændigheder eller overfor andre Bakterier.

Efter at have gennemgaaet Retningslinjerne indenfor Desinfektionsundersøgelsernes Udvikling, vil jeg nærmere omtale den enkelte Side af Desinfektionslæren som Væksthæmningsforsøgene udgør.

Væksthæmningsundersøgelser har, som allerede omtalt, været anvendt til Bestemmelse af desinficerende Stoffer lige saa længe som Desinfektionsundersøgelser i det hele taget har været anvendt, ligesom det var den eneste Maade til at erkende desinficerende Virkninger før Bakteriologiens Udformning. (*Runge*[13]). Den der først bakteriologisk har defineret Væksthæmningen er Bucholtz[15]), og med enkelte Forbedringer, særlig af Robert Koch, er hans Teknik siden anvendt.

Efter Koch's Undersøgelser er Hæmningsforsøgene traadt mere i Baggrunden og er i Forhold til de andre Desinfektionsformer underkastet ret faa rent videnskabelige Undersøgelser; et Forhold, der giver sig tydelig Udslag i den Korthed, hvormed alle Haandbøger behandler dette Spørgsmaal.

De talrige Undersøgelser, der er foretaget, overses bedst, saafremt man samler dem om de praktiske Formaal, hvorimod de er rettet:

1) Som Led i Bestemmelsen af et Stofs Desinfektionsevne.
2) Ved Undersøgelser af den saakaldte oligodynamiske Virkning.
3) Til Fremstilling af differentialdiagnostiske Næringssubstrater.
4) Som Led i chemotherapeutiske Forsøg.
5) Anvendelsen til Konservering af Næringsmidler.
6) Forsøg, der videnskabeligt undersøger de væksthæmmende Processer.

Som omtalt fordrede Robert Koch Undersøgelse af Væksthæmningen for alle desinficerende Stoffer, men han tillagde ikke denne Maaling stor Betydning; han henledte dog Opmærk-

somheden paa den store Forskel, der ved nogle Stoffer findes mellem den Koncentration, der kan dræbe Bakterier og den, der hindrer deres Vækst. v. Behring lagde derimod megen Vægt paa Hæmningsforsøgene og vilde gøre dem til Hovedmetode for al Desinfektionsundersøgelse. Det er allerede flere Gange omtalt, at Metoden kun var lidt egnet til dette Formaal, idet de fundne Resultater kun gælder disse meget specielle Betingelser. Hans Arbejder har derfor, i Stedet for at gøre Væksthæmningsforsøgene til betydningsfulde Undersøgelser, bragt dem i stærk Miskredit.

En særlig Form for Væksthæmning betegnes som Oligodynami; den ytrer sig ved at visse uopløselige Stoffer udøver en desinficerende Virkning, som ogsaa strækker sig udenfor deres Omraade. Denne tilsyneladende uforstaaelige Virkning, som Naegeli[37]) opdagede for Plantecellers Vedkommende, har siden stadig været betragtet med Forundring. At det var mest sandsynligt, at Virkningen skyldtes en Opløsning af noget af Stoffet, blev man snart klar over, men det lykkedes ikke at bevise dette sikkert, hvad man ikke kan undre sig over, da det drejer sig om saa smaa Mængder. At det er rigtigt tyder alle de Forsøg paa, der viser, hvorledes man kan ophæve Virkningen ved Tilsætning af Stoffer, der vilde omdanne det opløste Stof til endnu tungere opløselige eller endnu mindre dissocierede Forbindelser. Det er som sagt et ejendommeligt Fænomen, som den kemiske Teknik endnu ikke helt er i Stand til at løse, selv om nogle Forsøg[38]) fra den allersidste Tid synes endelig at afgøre, at der virkeligt opløses en Del af Stoffet.

I de senere Aar er der udført meget talrige Forsøg over den oligodynamiske Virkning; det er derfor nødvendigt at omtale dem lidt nærmere.

Aarsagen til disse talrige Undersøgelser er en fra enkelte Sider fremsat Forklaring paa Oligodynamien. Man har fremsat den Tanke, at Virkningen skyldtes en ukendt fysisk Kraft udgaaende fra Stoffet; en Kraft, som det dog ikke er lykkedes at paavise paa anden Maade, hvorfor ogsaa mange har villet vise, at det var en ganske ubegrundet Forklaring. Den Mand, som især har kæmpet for den ny Teori, er *Saxl*[39]), og i en Afhandling

har han samlet de fleste Undersøgelser over Oligodynamien indtil 1924.

Hvor liden kemisk Forstaaelse hele denne Teori er baseret paa fremgaar allerede af hans Definition paa Oligodynami:

Als oligodynamische Wirkung der Metalle und ihre Salze bezeichnen wir eine (meist biologische) Wirkung, bei deren Zustandekommen nur so wenig Metall oder Metallsalz in Lösung geht, dass eine chemische Wirkung dieser gelösten Metalle und Metallsalze entweder gar nicht nachweisbar oder doch nur von so geringer Intensität ist, dass eine derartige Metall(salz)lösung als chemisch äussert wenig aktiv bezeichnet werden muss.

Han opfatter saaledes en Opløsning af Sølvnitrat, der er $10^{\div 8}$ molær som oligodynamisk aktiv, hvad der er ganske vilkaarligt, ligesom han ogsaa mener, at Virkningen af en Suspension af Sølvklorid i destilleret Vand kun kan forklares ved oligodynamisk Kraft, tiltrods for at der her bestaar en velkendt kemisk Ligevægt $Ag\,Cl \rightleftharpoons Ag^{+} + Cl^{\div}$, som let kan forklare Forholdet. Der vil derfor ikke være nogen Grund til at gaa nærmere ind paa dette Spørgsmaal.

At Fænomenet kan benyttes til at belyse visse Spørgsmaal indenfor Væksthæmningsundersøgelserne er en anden Sag. Saaledes har *K. A. Jensen*[40]) og *Løhner*[41]) vist, at den Arnet'ske Lov for Giftvirkninger ogsaa gælder for Væksthæmning. Dette opnaas, idet man ved at lægge en Sølvtraad paa en tilsaaet Agarplade vil faa Zoner uden om Traaden med stadig aftagende Intensitet af Virkningen. Man finder da en Zone med tydelig Stimulation af Væksten.

Allerede hurtigt efter at Robert Koch havde angivet sin Rendyrkningsmetode opstod Ønsket om at faa Substrater, hvor det, i en Blanding af flere Bakterier, var let at isolere een bestemt Bakterieart. Dette kan man opnaa paa flere Maader, dels ved at give den ønskede Bakterie særlig gode Vækstforhold, dels ved at gøre dens Kolonier særlig synlige ved Indikatorer og endelig ved at fremkalde Væksthæmning af de andre Bakterier. De to første Maader skal jeg ikke omtale her, ligesom de Tilfælde, hvor de andre Bakteriers hæmmede Vækst skyldes Hunger eller andre manglende Livsbetingelser ogsaa falder udenfor det Om-

raade, jeg vil gennemgaa. Kun de Tilfælde, hvor Vækstbæmningen skyldes Tilsætning af visse Stoffer, falder ind under Desinfektionslæren.

Det første Forsøg paa at fremstille et saadant Substrat blev offentliggjort 1891 af *Uffelmann*[42]). Han viste, at Tilsætning af en vis Mængde Syre til Agaren hindrede mange Bakteriers Vækst, medens Tyfusbakterierne voksede uforandret. Endvidere viste han, at yderligere Tilsætning af Metylviolet forbedrede denne Virkning, idet dette Stof er meget mindre giftigt for Tyfusbakterier end for mange andre Bakterier. Dette sidste Forhold, som ogsaa gælder mange andre Farvestoffer, var allerede kendt[43]), men fik her sin første Udformning og er senere udnyttet paa talrige Maader.

I 1893 viste *Arens*[44]), at Tilsætning af Alkali ogsaa hæmmede mange Bakteriers Vækst, medens Choleravibrioner voksede uhindret ved den stærkt alkaliske Reaktion. Dette Forhold er senere[45]) yderligere udformet og forbedret ved Dieudonnés alkaliske Blodagar, der er et udpræget differentialdiagnostisk Næringssubstrat.

Senere er der fremstillet meget talrige Substrater, især for at lette Eftersøgningen af Bakterier af Tyfus-, Paratyfus-, Dysenteri-Gruppen. Det er lykkedes at skille disse godt fra mange Bakterier, men at hindre Væksten af Colibakterier og mange andre Gram ÷ Stave, samtidig med at de nævnte Bakterier vokser godt, er endnu ikke lykkedes helt. En Undtagelse danner dog de Farvestofagarsubstrater, hvormed man let kan finde Paratyfus B. Bakterier mellem talrige Gram ÷ Bakterier. Jeg vil ikke omtale alle de talrige Substrater af denne Art, der her er blevet forsøgt. De mest omfattende Undersøgelser paa dette Omraade er udført af *Ph. Eisenberg*[46]); de vil blive omtalt senere, da de er foretaget paa en meget bredere Basis. For nylig har *Sartorius*[47]) offentliggjort et større Arbejde, hvori han systematisk gennemprøver et stort Antal Farvestoffers hæmmende Virkning samtidig med at han varierer Forsøgsbetingelserne, især ved Forandring af Substraternes Brintjonkoncentration. Det Forhold, hvorved hans Forsøg supplerer de mange andre Arbejder

af denne Art, er det, at han undersøger, om Hæmningen virkelig er forskellig for de Bakterier, der skal adskilles.

Den Undersøgelsesmaade, der ellers hyppigst anvendes, er den, at man paa en Diagnosestation laver Dobbeltundersøgelser paa de indkomne Prøver, dels paa de sædvanlige Substrater, dels paa det, hvis Værdi man vil bestemme, og man ser saa i hvilket Tilfælde, der kommer flest positive Resultater. Denne Metode er egentlig god, idet det afgørende Spørgsmaal herved straks besvares; Resultatet kan dog vanskelig undgaa at være præget af Interessen for det ny Substrat, og det maa derfor være meget overbevisende, for at denne Metode kan være eneraadende. Ved mindre Forbedringer vil det være nødvendigt at underkaste Metoden en yderligere kvantitativ Undersøgelse, der viser, at den ønskede Virkning virkelig er til Stede, saaledes som Sartorius har gjort. At en saadan nøjere Prøvelse vilde være af Betydning ses tydeligt af de mange Substrater, som straks proklameres som særdeles gode, for snart at forsvinde igen; forinden vil de dog ofte have givet Anledning til meget unødvendigt Arbejde. Sartorius er endvidere den første, der i dette Sammenhæng har optaget Spørgsmaalet om de friske Stammers Resistens i Forhold til de gamle Laboratoriekulturers. Et Problem, som efter K. A. Jensens[48]) Paavisning af den overordentlig store Forskel i Latenstid, vil være af megen Betydning og som viser, at man heller ikke kan stole paa, at de rene Laboratorieforsøg alene kan give Anvisning paa gode differentialdiagnostiske Substrater.

At man ogsaa har anvendt andet end Farvestoffer til saadanne Substrater, vil jeg blot nævne, og som Eksempel omtale de Næringssubstrater, hvor man ved Tilsætning af Kaliumtellurit[49]) har søgt at hindre, at Difteribakterier bliver overvokset af forskellige Kokker. Endvidere vil jeg nævne det af Muller[50]) angivne Substrat til Dyrkning af Tyfusbakterien, hvor Tilsætningen af Natriumtetrationat synes at hindre de andre Bakteriers Vækst.

Vækstheemningsforsøgenes Betydning for chemotherapeutiske Studier er meget omstridt; de fleste af de nuværende Experimentatorer *Schnitzer*[51]), *Schlossberger*[52]) mener i Modsætning til *v. Behring*[23]) og *Ehrlich*[53]), at man ikke kan lægge videre

Vægt paa dem, selv om de fremhæver, at disse Forsøg kan have Betydning til Forklaring af selve den chemotherapeutiske Virkning. De hævder, at man ikke af Væksthæmningsforsøget kan slutte, hvorledes det undersøgte Stof vil virke »in vivo«, da man kan finde stærk Hæmning og ingen therapeutisk Virkning og omvendt ingen Hæmning, men godt Resultat af Behandlingen. At Resultaterne er saa uklare kan dog ikke undre, da selve de chemotherapeutiske Virkninger er meget usikre og Virkningens Art ganske ukendt.

Har saaledes Væksthæmningsmaalingerne ikke haft større Betydning for Chemotherapien, saa har dog de Undersøgelser, der er foretaget med dette for Øje, faaet en Del Betydning for Udviklingen af selve Hæmningsforsøgenes Teknik.

Ved Chemotherapi forstaar man nu oftest de Forsøg, der er udført paa Grundlag af Ehrlich's Arbejder; i dette Sammenhæng maa man dog anvende Betegnelsen i noget udvidet Betydning, saaledes at den omfatter alle Forsøg paa at helbrede infektiøse Tilstande ved ad kemisk Vej at dræbe (hæmme) de inficerende Mikrober. Saaledes har der altsaa allerede fra Antiseptikens første Dage været foretaget Forsøg paa Chemotherapi. Det er dog først v. Behring, der virkelig har søgt at udforme en saadan Therapi. Det lykkedes ikke, men, som det allerede er omtalt, var disse Bestræbelser Aarsagen til, at v. Behring fremhævede Væksthæmningsforsøgene til Bestemmelse af Desinfektionsevnen. Hans Forsøg har særlig fremhævet Æggehvidestoffernes Betydning ved Vurderingen af Forsøgsresultaterne. De senere Aars chemotherapeutiske Forsøg har især anvendt forskellige organiske Farvestoffer som bakteriedræbende Middel. Ved Studiet af disse Stoffers væksthæmmende Egenskaber viste det sig snart, at man maatte tage endnu flere Hensyn ved Bedømmelsen (se *Schnitzer*[51]). Det er især Brintjonskoncentrationens Indflydelse, man er blevet opmærksom paa, idet Forandringer af denne Art helt kan ændre Resultatet. Dette Forhold vil jeg senere meget nøje gennemgaa, ligesom jeg ogsaa vil omtale, at man har lagt mere Vægt paa Undersøgelse af den Betydning Udsaaningsmængden har.

Jeg vil nu omtale de Undersøgelser, der søger at klarlægge Væksthæmningsforsøgene paa tilsvarende Maade som de øvrige Desinfektionsformer. Man vil snart opdage den paafaldende Forskel i Udviklingen af dette enkelte Led og hele Desinfektionslæren. Jeg har søgt at fremstille, hvorledes man der stadig har forbedret Tekniken, stadig har søgt at gøre Undersøgelserne bedre definerede og stadig gjort de tilstedeværende Fejlkilder til Genstand for videre Undersøgelser, og endelig hvorledes man har skaffet Fremgangsmaader til at sammenligne Resultaterne. Derimod har Tekniken ved Væksthæmningsforsøgene omtrent holdt sig uforandret til Trods for, at man allerede meget tidligt har set de Fejl, der heftede ved Metoden. Med denne Teknik er der dog efterhaanden udført talrige Forsøg, hvoraf nogle er meget omfattende; de viser, at der ligger mange Opgaver som Væksthæmningsforsøgene vil kunne bidrage til at løse. De hidtil udførte Forsøg har kun kunnet antyde Resultaterne, da de er behæftede med saa mange varierende systematiske Fejl.

Allerede *Bucholtz*[15]) angav 1874 den samme Teknik, som endnu bruges; kun var han afskaaret fra at kunne bruge Renkulturer, af hvilken Grund hans Resultater blev af ringe Betydning for Eftertiden; men han saa allerede dengang de Vanskeligheder, der fremkom ved det desinficerende Stofs Blanding med Næringssubstratet. Han var en af de faa, der søgte at formindske denne Fejl, idet han anvendte Pasteur's mineralske Substrat, saaledes som jeg allerede har omtalt. Robert Koch[2]) afgrænsede Væsthæmningen indenfor Desinfektionslæren og anvendte Betegnelsen antiseptisk for denne Virkning. Den Teknik, han angav, er de fleste senere Forsøg blevet udført efter; den er meget enkelt, idet man til samme Mængde Næringssubstrat tilsætter forskellige Mængder af det desinficerende Stof og derefter tilsaar Blandingen med den Bakterie, der skal undersøges. Man iagttager nu, om der kommer Vækst i de tilsaaede Glas, og Stoffets væksthæmmende Evne angives ved den mindste Koncentration, der fuldstændig kan hindre Væksten. Ogsaa *Koch* gør opmærksom paa den store Betydning Næringssubstratet har ved Vurderingen af Forsøget, men opstiller væsentlig kun een For-

dring, som siden stadig gaar igen, nemlig at Substratet skal være »optimalt« for vedkommende Bakterie.

Jeg har allerede omtalt, at *v. Behring* lagde megen Vægt paa Væksthæmningsforsøgene, men dette bidrog ikke til at gøre Forsøgene bedre definerede, tværtimod gjorde han dem mere komplicerede. Til Gengæld søgte han i højere Grad at udrede Forholdet mellem det desinficerende Stof og Substratet, især viste han, at Kvægsølvet stadig blev fastere og fastere bundet til Albuminumstofferne jo længere Tid, der hengik fra Tilsætningen. Saaledes viste han, at den Mængde Kvægsølvsalt, der var nødvendig for at fremkalde Væksthindring, steg stærkt for hver Dag, der gik imellem Tilsætningen og Tilsaaningen.

Paul og *Kroenig*[24]) kom ikke nærmere ind paa Væksthæmningen, men fremsatte dog paa Grundlag af ganske faa Forsøg den Teori, at det, i Modsætning til Desinfektionsforsøg, ved Væksthæmningen ikke var Metaljonskoncentrationen, men den totale Mængde Metalsalt, der var bestemmende for Virkningen. De begrundede yderligere deres Opfattelse paa *v. Behrings* Forsøg, der viste, at Kvægsølvsaltenes Dissociation ikke spillede nogen Rolle for Desinfektionsvirkningen (d. v. s. Væksthæmningen, da v. Behring bestemte Desinfektionsevnen ved denne). Paul og Kroenig mente dog ikke, at de hidtil foretagne Forsøg beviste denne Opfattelse, men den er dog siden uden yderligere Bevis stadig gaaet igen.

Mange Forsøgsresultater (*Eisenberg*[54]) (Cadmiumsalte), *v. Linden*[55]) (Kobbersalte)) viser tilsyneladende det samme, men gaar man Forsøget nærmere igennem, ses det let, at man absolut intet Kendskab har til hvilke Processer, der er foregaaet.

Efter disse Forsøg er der indtil de sidste 15 Aar ikke fremkommet noget Arbejde, der har været af væsentlig Betydning for Væksthæmningsforsøgenes Udvikling. Der vil dog her være Grund til at henlede Opmærksomheden paa et Arbejde af *J. S. Iwanoff*[56]), som til Trods for at det omhandler Skimmelsvampes Væksthæmning dog alligevel søger at forbedre Tekniken. Han anvender mineralske Næringssubstrater for at undgaa det desinficerende Stofs Binding og søger yderligere at definere sine Forsøg ved at opstille følgende Fordringer:

1) Anvendelsen af rene Stoffer i bestemt Koncentration til Næringssubstratet, og kun hvis de er absolut nødvendige.

2) Der maa ikke fremkomme Udfældninger ved Tilsætning af det hæmmende Stof.

3) Man maa have sin Opmærksomhed henvendt paa de Forandringer det hæmmende Stof iøvrigt kan undergaa.

4) Den Skimmelsvamp, der studeres, maa være godt kendt, vokse godt i det anvendte Substrat og maa være følsom for meget smaa Mængder af det Stof, man undersøger.

Hans Forsøg synes ikke at have haft nogen Indflydelse paa Bakteriernes Væksthæmningsforsøg, og hans egne Resultater var kun indledende. Han gør opmærksom paa, at den hæmmende Virkning i nogle af Forsøgene tydelig var afhængig af hvilket Stof, der var anvendt for at tilføre Kvælstof.

Først gennem nogle af *Ph. Eisenberg*[46]) [54]) udførte Undersøgelser er nye Problemer opstillet og bearbejdet, men dog uden væsentlig Forbedring af Tekniken. I to Undersøgelsesrækker har Eisenberg udført de mest omfattende Væksthæmningsforsøg og derved skabt et stort Materiale til Bedømmelse af talrige Stoffers væksthæmmende Egenskaber. Han har endvidere ud fra Resultaterne søgt at belyse de forskellige Processer, som kunde tænkes at forklare Væksthæmningen, idet han yderligere støtter sig paa sine tidligere Arbejder[57]). Da hans Forsøg er foretaget med den sædvanlige Teknik, maa man sige, at hans Forklaringer af mange af Resultaterne er bygget paa et noget løst Grundlag. Der er dog visse Kendsgerninger, som det er lykkedes at belyse meget skarpt og som er af stor Betydning. Grundlaget herfor hviler paa Resultaterne af den første Forsøgsrække[46]), hvor han undersøger en Del Farvestoffers væksthæmmende Indflydelse overfor en Del forskellige Bakterier. Han finder nu, at der er en overordentlig stor Forskel i disse Stoffers Virkning paa Gram + og Gram ÷ Bakterier, idet de første paavirkes meget kraftigere (indtil 10,000 Gange stærkere). Dette Forhold var allerede til dels kendt, saaledes som jeg har nævnt det ved Omtalen af differentialdiagnostiske Substrater; *Boer*[43]) fandt Resultater meget nær Eisenberg's, og *Jaenicke*[58]) bemærker, at de Bakterier, der optager Farvestofferne, dør; men først Eisenberg sam-

ler alle disse Kendsgerninger og viser, at de Bakterier, der er følsomme, er de, der farves efter Gram's Farvemetode. Jeg maa dog nævne, at et omtrent samtidig Arbejde af *Churchmann*[59]) viser det samme.

I den næste Afhandling undersøger *Eisenberg*[54]) om ikke det samme Forhold gør sig gældende for andre væksthæmmende Stoffer, særlig Metalsalte. Det viser sig, at dette er Tilfældet med mange Stoffer; dog finder man ikke Gram + Bakterier altid mest følsomme, idet nogle Forbindelser paavirker de Gram ÷ stærkest. Bakterierne indenfor samme Gruppe følges derimod altid, selv om der mellem de enkelte Bakterier kan være ret stor Forskel. Da Undersøgelserne omfatter overordentlig mange Metalsalte, udvides Bedømmelsen af dem til at omfatte en Sammenligning mellem disse. Foruden at sammenligne Virkningen af forskellige Metalsalte af samme Syre, undersøger han ogsaa talrige Salte af samme Metal med forskellige Syrer. Af Resultaterne søger han at opstille dels Metallerne, dels Syreresterne i Rækker efter Virkningens Intensitet; han sammenligner disse med tilsvarende Rækker fundet ved andre biologiske Processer og finder ret god Overensstemmelse.

Som jeg har nævnt, har han ikke ændret Undersøgelsesteknikken, og hans Resultater er derfor meget afhængige af de ganske ubekendte Reaktioner mellem det hæmmende Stof og Næringssubstratet. Endvidere er der ikke taget noget Hensyn til den Ændring i Brintjonkoncentrationen, der ofte fremkommer, og som ofte kan have stor Indflydelse paa Resultatet. For at mindske disse Fejl har han dog anvendt meget fortyndet Bouillon til Fremstilling af den Agar, som er anvendt til alle Forsøgene.

Han har selv haft Øjnene aabne for disse Fejlkilder, som omtales meget nøje, men for at kunne gennemføre Undersøgelsen med saa mange Stoffer, maatte han bruge en ensartet Teknik. Mange af Resultaterne vil derfor vise sig at være af ringe Værdi eller maa ihvertfald forklares ud fra andre Forudsætninger; alt i alt maa det dog hævdes, at hans Arbejde er af stor Værdi for alle Væksthæmningsundersøgelser.

Af senere Arbejder vil jeg omtale *Kuroyas*[60]) Arbejde over Metalsaltenes Væksthæmning. Forsøgene, der kun omfatter

Klorider, er foretaget i Bouillonkulturer. For at klarlægge noget af Reaktionen mellem det hæmmende Stof og Substratet er der i hvert Forsøg foretaget Brintjonkoncentrationsbestemmelse. Ligesom Eisenberg opstiller han Metallerne i Række efter Virkningens Intensitet og finder væsentlig Overensstemmelse. Han mener at kunne forklare denne Orden efter dens Forhold til Rækkefølgen af Metallernes elektrolytiske Opløsningstension.

De fleste Hæmningsforsøg, der ellers er offentliggjort i disse Aar, er omtalt i Tilslutning til differentialdiagnostiske Næringssubstrater og chemotherapeutiske Stoffer.

Kun et Arbejde vil jeg endnu nævne her, selv om jeg senere vil gennemgaa det meget nøje. Det drejer sig om en af de Afhandlinger *K. v. Neegaard*[61d]) har offentliggjort om Sølvsaltenes biologiske Virkninger, hvor han virkelig søger at maale Koncentrationen af den aktive Faktor, som fremkalder Væksthæmningen; herved nærmer man sig for Hæmningforsøgene det Trin, hvortil Paul og Kroenig's Undersøgelser for 30 Aar siden førte den øvrige Desinfektionslære.

Jeg har nu fulgt Udviklingen af den til videnskabelige Desinfektionsforsøg anvendte Teknik, ligesom jeg har omtalt de forskellige Veje, af hvilke man har søgt at faa et godt Udtryk for sine Resultater; jeg vil nu ganske kort gennemgaa, hvad man har ment at kunne slutte om Desinfektionsprocessernes Indvirkning paa Bakterierne. Naar jeg kun vil behandle dette Spørgsmaal i Korthed, er det fordi Muligheden for at forklare disse Forhold stadig ligger ret langt ude i Fremtiden. De hidtil givne Forklaringer hviler paa et ret løst Grundlag til Trods for meget omfattende Undersøgelser. Først et endnu nærmere Samarbejde med Kemien vil muliggøre Løsningen af disse Spørgsmaal. Jeg vil derfor kun ganske overfladisk belyse de væsentligste Problemer disse Undersøgelser har beskæftiget sig med; hvorimod jeg ikke søger at give nogen egentlig Oversigt over de Arbejder, der er udført med dette Maal for Øje.

Inden jeg gaar over til at omtale disse Spørgsmaal, vil jeg søge at udforme en skematisk Model, i store Træk, af et Desin-

fektionsforsøg for bedre at kunne vise, hvorledes de forskellige senere omtalte Undersøgelser grupperer sig om de Processer, der foregaar.

Til Forsøget anvendes: 1) Det desinficerende Stof: S. 2) Den Vædske dette opløses i: V. 3) Bakterier: B.

Den første Fase af Undersøgelsen bestaar i, at S opløses i V. Der dannes derved et System S + V, hvis Sammensætning er afgørende for Desinfektionsvirkningen.

Den næste Fase bestaar i, at Bakterierne tilsættes; den er kun kortvarig, men i denne Tid dannes Systemet S+V+B. Bakterierne maa i denne Fase opfattes som indifferente smaa Legemer og virker ved den Overflade de danner mod Mediet. Der foregaar derfor en Forandring, idet visse Stoffer samler sig i en anden Koncentration i dette Grænselag, hvilket viser sig som en Adsorbsion af Stoffet.

Det ses, at disse to Faser væsentlig angaar kemiske og fysiske Forhold.

Denne anden Fase gaar jævnt over i den tredie, hvor det desinficerende Stof trænger ind i Bakterierne. Hvorledes dette foregaar, og hvad der foregaar inde i Bakterien, ligger foreløbig udenfor vor Erkendelse, naar det da ikke drejer sig om meget voldsomme Paavirkninger, der giver sig synlige Udslag.

Da man almindeligvis antager, at Bakterierne er omgivet af en Membran, har man undersøgt, om denne forholdt sig ligesom andre »biologiske« Membraner og har derved faaet enkelte Oplysninger, som ihvertfald er en Begyndelse til en Forstaaelse af de Processer, der foregaar.

Den fjerde Fase bestaar af en Afbrydning af den desinficerende Virkning paa en bestemt Tid. De Problemer dette Forhold rummer er allerede flere Gange omtalt, men er uden Betydning for Væksthæmningen.

Endelig slutter Desinfektionsforsøget med Paavisning af, om Bakterierne er i Stand til at formere sig.

I Væksthæmningsforsøgene findes de 3 første Faser ganske tilsvarende, men disse Forsøg adskiller sig fra de egentlige Desinfektionsforsøg ved Bakteriernes Livsfunktioner.

Betydningen af Undersøgelserne af den første »Fase« er allerede mange Gange omtalt baade ved Desinfektionsforsøg og ved Væksthæmningsforsøg.

Paul og *Kroenig*[24]) var de første, der virkelig paabegyndte dette Arbejde, idet de henledte Opmærksomheden paa, at det ofte ved dissociable Stoffer var een bestemt Jon, der bevirkede Desinfektionen, og kun dennes Koncentration var afgørende for Intensiteten. Et Forhold som dog *Scheurlen* og *Spiro*[62]) omtrent samtidig paapegede, men med mindre omfattende Beviser for Rigtigheden. Nogen yderligere Uddyben af de af *Paul* og *Kroenig* opnaaede Resultater angaaende Metalsalte er egentlig først naaet gennem K. v. Neergaards[61d]) 25 Aar senere udførte Undersøgelser. Han gik det Skridt videre direkte at maale den Sølvjonkoncentration, som var i Stand til at fremkalde Desinfektion. Manglen paa Kendskab til lignende Forhold ved andre Metalsalte, især Kvægsølvsalte, har i høj Grad vanskeliggjort Forstaaelsen af mange Desinfektionsforsøg.

Ikke blot for Metalsaltene spiller Dissociationen en stor Rolle, ogsaa for mange andre Stoffer. Saaledes for en Del aromatiske Syrer, hvor det ejendommelige Forhold viser sig, at det ikke er Jonerne, men den udissocierede Syre, der har den desinficerende Evne. Dette, som senere vil blive omtalt, er meget nøje paavist af *Vermast*[63]) for Benzoesyren, medens andre Forsøg, uden direkte at bevise det, viser det samme for Salicylsyre[64]) [65]). Ogsaa de Forsøg, der behandler pH Betydning for de chemotherapeutiske Stoffers giftige Virkning, viser, at ogsaa her spiller Dissociationen en Rolle, men de nærmere kemiske Forhold er der tildels ukendte.

Inden jeg afslutter Omtalen af de Undersøgelser, der er foretaget for virkelig at kende Mediets Sammensætning, maa jeg omtale den Betydning Tilstedeværelsen af andre Stoffer har. Jeg tænker ikke her paa Tilsætningen af et andet desinficerende Stof og den deraf følgende Kombinationsvirkning, men kun saadanne Tilsætninger, der forandrer selve det undersøgte Stofs Virkning. Ved sine Undersøgelser over Betydningen af Tilsætning af Kogsalt til Phenolopløsninger var *Scheurlen*[66]) den første, der søgte at give en Forklaring af disse Forhold. Nogen klar

Opfattelse af disse Forhold er stadig ikke opnaaet. Tilstedeværelsen af Syre samtidig med det desinficerende Stof er, som det allerede er omtalt, ofte studeret. (Se S. 50).

At det desinficerende Stof kan være opløst i en ikke vandig Vædske, har jeg slet ikke omtalt, da dette ligger helt udenfor mit Arbejdes Rammer; jeg vil nævne det her og minde om Koch's Paavisning af, at Phenol opløst i Olie eller Alkohol er ganske uden bakteriedræbende Virkning.

Jeg vil nu gaa over til de Undersøgelser, der har beskæftiget sig med de Processer, jeg betegnede som anden Fase. Det, der her karakteriserer Billedet, er Dannelsen af den ofte uhyre Overflade, der opstaar mellem Bakterierne og Mediet. Man har ment (Traube)[67]), at selve Mediets Overfladespænding skulde have Betydning for Desinfektionen, saaledes at Forandringen i dennes Størrelse skulde skade Bakterierne. At der er et vist Forhold mellem et Stofs Overfladeaktivitet og dets desinficerende Evne har *Johanne Christiansen*[68]) vist ved sine Undersøgelser over de alifatiske Alkoholer, idet hun viser, at Desinfektionsevnen forøges samtidig med, at Overfladeaktiviteten stiger. At det netop er den forandrede Overfladespænding, der har denne Virkning viser Forsøget dog ikke; nogle af Resultaterne taler endda nærmest imod dette, hvilket *Johanne Christiansen* selv fremhæver. Samtidig med at Overfladeaktiviteten stiger, adsorberes Stoffet ogsaa lettere. Vi kommer derved over til det væsentlige Resultat af Overfladedannelser: Bakteriernes Adsorbtion af mange Stoffer. Da det ofte er vanskeligt at afgøre, om der foreligger Adsorbtion eller kemisk Binding, saa er heller ikke dette Spørgsmaal afklaret. Det er sikkert, at der foregaar Adsorbtion, men om man kan tillægge den nogen umiddelbar Betydning for Bakteriens Død er meget tvivlsomt. Derimod vil Adsorbtionen i høj Grad lette det giftige Stofs Indtrængen i Bakterien paa Grund af den store Koncentration, der findes lige omkring Bakterien. Jeg vil dog ikke gaa nærmere ind paa dette Spørgsmaal, men blot nævne K. v. Neergaards Arbejde[61]), der viser Adsorbtionens Betydning ved Sølvsaltene.

Jeg kommer nu til de Undersøgelser, som søger at besvare de Problemer 3die »Fase« frembyder. Som jeg dog allerede begyndte

med at sige, er Resultaterne saa usikre og i mange Henseender saa løst underbygget, at jeg ikke mener, at Tiden er inde for en Bedømmelse af disse Forhold.

Kun vil jeg omtale nogle Undersøgelser, der har søgt at vise, at Meyer-Overtons Narkoseteori ogsaa kan forklare visse Desinfektionsforsøg. Det væsentligste Forsøg i denne Retning er *Vermast*'s[63]) Undersøgelser over Benzoesyrens desinficerende Virkning. Han finder ved at variere pH, og derigennem Mængden af Benzoatjon og udissocieret Benzosyre, at den desinficerende Virkning udelukkende er afhængig af den udissocierede Benzoesyres Koncentration. Denne er udpræget lipoidopløselig og gaar fra en vandig Opløsning hurtig over i en »lipoid« Vædske, saaledes som det er vist af *Hendrixson*[69]). Vermast har derfor ment, at den desinficerende Evne var afhængig af denne Lipoidopløselighed, som Benzoatjonen ikke var i Besiddelse af. Noget egentlig Bevis for Opfattelsen er Forsøgene ikke, og først Fremtiden kan afgøre dette.

EGNE UNDERSØGELSER

Indledning.

Ved Væksthæmning forstaas i dette Arbejde: *den Hæmning af en Bakteries Vækst, som fremkommer ved en yderligere Tilsætning af et Stof til et Næringssubstrat, hvori Bakterien kan formere sig.*

Derimod omfatter Betegnelsen ikke den forsinkede Vækst, som findes i utilstrækkelige Næringssubstrater (Hunger) eller paa Grund af ufordelagtige ydre Forhold (Eks. Kulde). Kun saafremt Bakterievæksten forøges ved Fjernelse af et bestemt Stof, kan Substratet i sig selv betegnes som væksthæmmende.

Undersøgelsen af Bakteriernes Væksthæmning kan have forskellige Maal, men med den nuværende Teknik kan man kun arbejde mod et af disse ad Gangen.

Først maa man ligesom ved Desinfektionsforsøg skelne skarpt mellem praktiske Opgaver og de rent videnskabelige Forsøg, der vil stræbe efter at forklare disse Fænomener. Ved praktiske Opgaver vil Betingelserne altid være saa komplicerede, at man ikke af Resultaterne kan slutte noget om de Processer, der foregaar. Heller ikke af de videnskabelige Forsøg kan man sikkert bedømme, hvorledes de praktiske Metoder vil virke; man kan kun angive den Retning, man skal gaa.

De videnskabelige Undersøgelser slutter sig meget nær til Desinfektionsforsøgene, men adskiller sig, som det allerede er omtalt, fra disse paa et meget betydningsfuldt Punkt: *Bakterier lever under Forsøget og indvirker ved sine vitale Funktioner paa Forløbet.*

De videnskabelige Opgaver, man bliver stillet overfor, kan deles i 2 Hovedgrupper: Den ene omfatter Undersøgelser af de

morphologiske og nøjagtige talmæssige Forhold under Hæmningen, den anden omfatter Undersøgelser, hvori man søger at udrede de biologiske kemiske Processer, der bevirker Væksthæmningen.

Da den nuværende Teknik ikke tillader at behandle begge Spørgsmaal efter samme Metode, maa man søge saa godt som muligt at udnytte Resultaterne af den ene Art Undersøgelser ved de andre Forsøg. Kun ved stadig gensidig Paavirkning kan man med Tiden vente at naa til en nærmere Forstaaelse af disse Problemer.

Mine Undersøgelser i dette Arbejde omfatter særligt de biologiske kemiske Forhold.

Selve Tekniken ved Væksthæmningsforsøgene er, som omtalt, tilsyneladende meget enkle, men for at kunne drage biologisk kemiske Slutninger af de umiddelbare Resultater er der mange Forhold, der maa tages i Betragtning.

Man maa meget nøje kende alle Bestanddelene i den Kultur man bruger. Denne opstaar ved Sammenblanding af 3 Dele.

1) Næringssubstratet. 2) Det væksthæmmende Stof. 3) Bakterier.

Man maa kende alle Næringssubstratets Bestanddele, ikke blot hvilke Stoffer, der er anvendt ved Fremstillingen, men ogsaa i hvilken Form og Mængde de forskellige Stoffer findes i selve det opløste, steriliserede Substrat. Nøjagtigt kan dette kun vides i de saakaldte »syntetiske« Substrater, som udelukkende er sammensat af rene velkendte kemiske Forbindelser. I Substrater, der indeholder Peptonbouillon, kender vi meget lidt til Bestanddelene; alligevel kan vi ikke undvære dem paa Grund af de gode Vækstbetingelser, der her bydes Bakterierne.

Ved kun at anvende flydende Substrater opnaar man, at hver enkelt Bakterie nogenlunde udsættes for samme Paavirkning, og at alt det hæmmende Stof bliver udnyttet. Desuden opstaar der ikke lokale Forandringer paa ethvert Sted, hvor en Bakterie udfolder sine vitale Funktioner. Dette er en Fordring, som gentagne Gange har været fremsat, men kun sjældent er blevet opfyldt. Saaledes er nogle af de mest omfattende Undersøgelser udelukkende foretaget paa Agar.[46]) [47]) [54]). Som Grund til at an-

vende faste Substrater angiver *Eisenberg*[46]), at man derved generes mindre af Udfældninger. Dette er dog kun en tilsyneladende Fordel; i Virkeligheden opstaar de samme Udfældninger, kun fordeles de mere jævnt og bliver mindre synlige. Hermed har man dog ikke vundet noget, idet alle de Tilfælde, hvori der i det hele taget kommer Udfældninger, er meget vanskelige at udrede i kemisk Henseende. Ved Studiet af Stoffer, der er tilbøjelige til at give Udfældninger, maa man søge at finde et anvendeligt Næringssubstrat, hvori Stoffet er opløseligt. Finder man ikke et saadant, vil man ved tungtopløselige Metalsalte i nogle Tilfælde alligevel kunne gennemføre Undersøgelsen med et godt Resultat. En Betingelse herfor er, at man kender Udfældningens Sammensætning og kender dens Opløselighedsprodukt, og endelig at man kan faa Udfældningen i kolloid Form (se Forsøgene over Ag J), hvorved den fordeles ensartet i hele Substratet.

Som en anden Grund til at anvende Agar anfører Eisenberg, at man isaafald ved stærkt farvende Stoffer bedre kan iagttage Væksten. Dette er meget rigtigt og vil ogsaa til nogle Formaal være det mest praktiske, men til Forsøg, hvor man vil kende de kemiske Forhold nøjagtigt, kan det ikke anvendes, og desuden kan man overvinde Vanskelighederne paa anden Maade.

Det vækstheemmende Stofs Kemi maa være godt kendt, man maa vide om det ved Opløsning dissocieres og isaafald hvorledes. Man maa kunne maale eller beregne de enkelte Joners og den udissocierede Rests Koncentration.

Man blander Næringssubstratet og det hæmmende Stof, og der opstaar et helt nyt System, hvis Sammensætning man enten maa kunne beregne ved Kendskabet til de to Komponenter eller finde ved dertil egnede Analyser; særlig vigtig vil selvfølgelig Bestemmelsen af det hæmmende Stof være. Man maa vide i hvilken Form det findes, om det er indgaaet i nye kemiske Forbindelser med Substratets Bestanddele, om disse er irreversible, eller om der findes en Ligevægt mellem de forskellige Bestanddele. Ogsaa selve Substratet kan omdannes, saaledes at dets Egenskaber som Næringssubstrat ændres, særlig ved Forandring af pH eller ved Udfældning af nødvendige Joner (saaledes SO^{--} af Bariumsalte).

Bakterierne maa ogsaa være saa veldefinerede som mulig. Man maa anvende en vel undersøgt, rendyrket Bakteriestamme, men især er det nødvendigt, at man altid bruger Bakterier, der har vokset paa samme Næringssubstrat i samme Antal Timer. Dette har ikke blot Betydning for Bakteriernes Resistens[70]), men ogsaa for den uhæmmede Vækst paa Næringssubstratet[18]) [33]). Endvidere har Antallet af Bakterier, der anvendes som Udsæd stor Betydning; dog mindre end ved Desinfektionsforsøgene. Man kan tænke sig to Maader, hvorved Forandring af Bakterieantallet kan indvirke paa Væksthæmningens Resultat.

Da man i mange Tilfælde antager, at hver Bakterie binder noget af det hæmmende Stof, maa der, ihvertfald ved meget giftige Stoffer findes en Grænse for det Antal Bakterier[71]) [46]) [61]), der kan hæmmes i deres Vækst; overskrider man denne, maa Mængden af hæmmende Stof stige proportionalt med Bakteriemængden, for at Hæmningen kan opretholdes. Det viser sig dog, at selv ved meget giftige Stoffer er det meget store Bakterimængder, der maa anvendes for at Forholdet spiller nogen Rolle.

Hvis man antager, at en Bakteriekultur bestaar af Bakterier med forskellig Resistens og heraf igen forholdsvis faa med meget stor Resistens[20]) [33]), kan man vente at finde denne formindsket, naar man anvender meget faa Bakterier til Udsæd. Isaafald er det nemlig mest sandsynligt, at man ikke faar en eneste af de mest resistente Kim med.

Der vil paa dette Sted være Grund til at fremhæve, at Resultatet af et Hæmningsforsøg altid maa angive den største Resistens, idet selv een Bakterie med denne vil formere sig og derved præge Resultatet.

Da disse Forhold kan være forskellige i de enkelte Forsøg, er det nødvendigt for hver Forsøgsrække at undersøge Betydningen af Variation af Udsædsmængden. Det viser sig ved Forsøgene, at det er paa et meget udstrakt Omraade, at Mængden kan varieres uden Indflydelse paa Resultatet.

Efter at de 3 Komponenter af Kulturen er sammenblandet, begynder selve Væksthæmningsforsøget. Bakterierne vil nu reagere med Substratet; dels vil de søge at udnytte Næringsstofferne, dels paavirkes de af det hæmmende Stof.

Hvorledes dette foregaar, ved man meget lidt om trods talrige Forsøg; derimod kan man tænke sig forskellige Betingelser, der spiller en vis Rolle og som det derfor vil have Interesse at bestemme.

Der maa findes en bestemt Koncentration af den aktivt giftige Faktor, der er den mindste, der endnu kan reagere med Bakterien, saaledes at Væksten hindres, hvis Betingelserne ellers er tilstede.

Den giftige Faktor vil i mange Tilfælde indgaa en Art Forbindelse med Bakterien, og herved forbruges en vis Mængde af det hæmmende Stof; man maa derfor ofte skelne mellem to Faktorer: Den absolutte Mængde af det hæmmende Stof og Koncentrationen af den aktivt giftige Faktor. Ved den absolutte Mængde maa man igen skelne mellem to Størrelser. Den man umiddelbart bestemmer ved Forsøget = den tilsatte Mængde hæmmende Stof, og den Mængde, der virkelig anvendes ved Væksthæmningsprocesserne. Den første Størrelse er i mange Tilfælde uhyre større end den anden, idet maaske største Delen af det tilsatte hæmmende Stof vil indgaa Forbindelser med Substratet og saaledes helt have mistet sin hæmmende Virkning; det kan dog ogsaa deltage i Processerne ved at danne svagt dissociable Forbindelser, men kun saafremt den samlede Koncentration er meget stor.

Denne Størrelse er derfor mere afhængig af hele Substratets fysisk-kemiske Opbygning end af Stoffets væksthæmmende Egenskaber.

Den anden Størrelse, som er den egentlig betydningsfulde biologiske Faktor, er oftest umulig at bestemme. Man kan iøvrigt ikke antage den for at være nogen konstant Størrelse, den maa afhænge af flere Forhold. Først og fremmest af Antallet af Bakterier, hvorfor den bør beregnes pr. Bakterie, men dernæst af Bakteriernes Evne til at modarbejde Giftvirkningen, hvilket atter sandsynligvis er afhængig af Bakteriernes Stofskifte i det anvendte Substrat.

Medens saaledes Mængden af tilsat hæmmende Stof umiddelbart kun giver faa Oplysninger om Væksthæmningens nærmere biologiske-kemiske Forhold, vil Koncentrationen af den

virkelige aktive Faktor have stor Betydning. Dette Forhold har man tidligere ikke undersøgt i videre Grad, hvad der er saa meget mærkeligere, som det gennem *Paul* og *Kroenig*'s Arbejde meget tidligt blev vist, at dette er noget af det vigtigste ved Desinfektionsforsøg. En af Grundene hertil er sikkert den, at man, som omtalt, har slaaet sig til Ro med den ret løst udkastede Teori af Paul og Kroenig: at Dissociationen var uden Betydning for Væksthæmningen. Først ved de sidste Aars Undersøgelser er man begyndt at trænge lidt nærmere ind paa dette Spørgsmaal, især efter at man ved Forsøg med mange chemotherapeutiske Stoffer har opdaget Indflydelsen af den tilstedeværende Brintjonkoncentration og derigennem forstaaet Nødvendigheden af at kende de anvendte hæmmende Stoffers Dissociationsforhold.

Ved ethvert Væksthæmningsforsøg maa det derfor være en af de første Opgaver at bestemme hvilken eller hvilke Faktorer der er aktivt væksthæmmende og dernæst søge at bestemme, hvilken Koncentration heraf der er nødvendig for at fremkalde Virkningen.

Hvilken Funktion af Væksthæmningen man skal maale ved Væksthæmningsforsøgene er ikke helt let at bestemme. Den Størrelse, det er af den vigtigste Betydning at finde, er den mindste Koncentration, der helt kan hindre en Bakteriekulturs Vækst, hvorlænge Forsøget end udstrækkes. Denne Bestemmelse rummer dog adskillige Vanskeligheder. For det første kan man ikke være sikker paa, at Mediets Sammensætning kan bevares uforandret ubegrændset længe, især ikke under de Betingelser Vækstforsøget fordrer, ja, ofte ved man, at den oprindelige Tilstand kun kan holde sig en bestemt Tid. For det andet kan man formode, at Bakterierne i nogle Tilfælde forbruger en Del af den hæmmende Substans.

Det vil derfor ofte være godt at maale en anden Funktion af Hæmningen til Belysningen af Forholdet. Man kan saaledes bestemme den Koncentration af den væksthæmmende Faktor, som er i Stand til at hindre Væksten i en bestemt Tid, og isaafald vælge et Tidsrum, hvor man ved, at Substratet kan holde sig uforandret. Resultatet vil dog ved denne Fremgangsmaade blive

afhængig af Antallet af tilsaaede Bakterier og af Væksthastigheden i det valgte Substrat.

Et yderligere Udtryk for Væksthæmningen kan man faa ved at maale Væksten Time for Time i flere Kulturer med stigende Mængder af det hæmmende Stof. Ved at sammenligne de forskellige Resultater, kan man da se, hvorledes Hæmningen tiltager, og man faar derved et godt Billede af det Koncentrationsomraade, i hvilket den hæmmende Virkning ligger.

Sammenfatter man disse Betragtninger, ses det, at man ved at vælge en bestemt ret lang Forsøgstid (Eks. 48 Timer) i de fleste Tilfælde kan faa brugbare Resultater, som dog helst maa suppleres med de mere komplicerede Studier over Vækstkurverne.

Om Næringssubstrater til bakteriologisk-kemiske Undersøgelser.

Som det fremgaar af det foregaaende spiller Næringssubstraterne en meget stor Rolle for disse Forsøg, ligesom ved alle andre Undersøgelser for at klarlægge almindelige biologiske Forhold hos Bakterierne.

Allerede tidligt fik man Øjnene op for dette og søgte at fremstille Substrater, hvis Sammensætning var kendt. Saaledes angav Pasteur[12]) et saadant Substrat, og senere er der fremstillet talrige andre, men virkelig Betydning for Forskningen har de ikke faaet. De fleste af de tidligere Forsøg stræbte efter at fremstille gode anvendelige Næringssubstrater til Erstatning for de almindelig anvendte (*Cohn*[73]), *Fraenkel*[74]), *Uschinsky*[75])), men uden at det lykkedes at faa noget Substrat, der har faaet virkelig Anvendelse i den praktiske Bakteriologi. Med mere Held har man søgt at anvende disse Substrater til Klarlæggelse af biologiske Spørgsmaal, især om Toxindannelse var mulig trods manglende Æggehvidestoffer; det er dog kun Forsøg udført i de senere Aar, der har givet rigtig holdbare Resultater (*Eisler*[76]), *Wichmann*[78])).

Endvidere har man søgt at udfinde, hvilke Stoffer der var absolut nødvendige, og hvilke der kunde erstatte hinanden, men

næsten alle disse Forsøg maa siges at være uden Betydning, da de absolut ikke opfylder de Krav, man maa stille til saadanne Forsøg[79]).

At Substraterne ogsaa har været brugt til Væksthæmningsforsøg dels af Bucholtz[15]), dels af Iwanoff[56]) er allerede omtalt, men de har ikke faaet nogen Betydning for Væksthæmningsforsøgenes Udvikling.

Hailer[80]) angiver, at han har forsøgt Anvendelsen af syntetiske Næringssubstrater til Væksthæmningsforsøg, men han fandt dem uegnede, da Bakterierne var mere følsomme heri paa Grund af daarlig Vækst.

Først gennem de i de senere Aar af *H. Braun*[81]) og hans Medarbejdere gennemførte systematiske Undersøgelser har disse Substrater faaet virkelig Betydning.

For at naa sikre Resultater har *Braun* stillet sig den Opgave at bestemme for hver enkelt Bakterieart hvilke Stoffer, der er absolut uundværlige for Væksten. I Modsætning til alle tidligere Arbejder har han stillet det Krav først at anerkende Sammensætningen, saafremt Væksten kan fortsættes i stadige Passager i et Substrat bestaaende af disse og kun disse Stoffer. Det er en af Brauns store Fortjenester at have opstillet og fulgt denne Fordring, idet han derved har udelukket, at Væksten skyldes ubetydelige Tilblandinger af det Substrat, Bakterien oprindelig voksede i. Mangel paa Hensyn hertil er sikkert Aarsagen til de mange modstridende Forsøgsresultater i tidligere Tid.

Det er lykkedes at bestemme saadanne Substrater for en Del Bakteriearter; det har her vist sig, at de tilsyneladende store Fordringer nogle Bakterier stiller for at kunne vokse, blot er Fordringer om et enkelt veldefineret Stof. Saaledes kan B typhi vokse paa et meget enkelt sammensat Substrat, blot der er tilsat en ubetydelig Mængde Tryptofan, medens mange Stammer B diphteriae vokser paa et endnu simplere Substrat, blot der er tilsat lidt Cystin[81e]).

Til de Bakterier, hvis Ernæringsforhold saaledes er kendt, har man nu den Mulighed at fremstille et veldefineret Substrat, hvori Bakterien kan vokse godt, og som dog kan sammensættes saaledes, at man fuldstændig ved Besked med, hvad der i kemisk

Henseende maa ske ved en yderligere Tilsætning (vækstthæmmende Stof). Betydningen kan ogsaa belyses ved følgende Forhold. Har man et »syntetisk« men mere kompliceret Substrat, hvori den undersøgte Bakterie vokser godt, ved man hvilke Stoffer, man kan fjerne uden at hindre Væksten. Ved Undersøgelser over Sølvsalte vil det saaledes i nogle Tilfælde være af Betydning at undvære Klorjoner i Substratet; Brauns Forsøg viser at dette er muligt, saafremt man bruger B coli til Forsøget.

I det hele taget kan man sige, at man gennem hans Teknik har faaet en Metode til at studere biologiske Processer under saa enkelte og veldefinerede Betingelser, som kun ellers sjældent kan opnaas. Man har den levende Celle omgivet af et Medie, hvis Sammensætning fuldstændig kendes, og man generes ikke ved Bedømmelsen af Resultaterne af den Usikkerhed, som altid findes, naar den undersøgte Celle er omgivet af en »biologisk« Vædske af altid ukendt Sammensætning.

Noget Substrat, der, som Pepton-Bouillon, giver særdeles god Vækst for mange forskellige Bakterier, er det ikke lykkedes at fremstille. Derimod findes der mange Substrater, som giver udmærket Vækst for en eller enkelte Bakteriearter.

Man maa derfor antage, at saadanne Substrater i særlig Grad maa være egnet til Undersøgelse af Vækstthæmning.

Mod Undersøgelser af denne Art kan der anføres, at man paa denne Maade ikke undersøger normale Bakterier, men Bakterier, der er svækkede ved at leve under unormale Forhold.

Dertil maa jeg først bemærke, at man i Virkeligheden kun ved meget lidt om, hvorledes en bestemt Bakteries »normale« Vækstforhold er, og ingen hidtil anvendte Dyrkningsmetoder gengiver Forholdene, saaledes som de er der, hvor Bakterierne findes i Naturen.

At Bakterier fra forskellige Næringssubstrater kan have noget forskellig Resistens, har jeg omtalt ved Desinfektionslæren. At Bakterier, der stammer fra syntetiske Substrater, i nogle Retninger er mindre resistente er allerede paavist fra Brauns Laboratorium af *Cahn-Bronner*[70]). Resistensforskellen er dog mindre, end man maaske vilde vente.

I det store og hele svækker disse Forhold ikke Metodens Betydning, det fremhæves blot herved, at man ikke af de vundne Resultater kan drage umiddelbare Slutninger om den praktiske Anvendelse. Jeg maa dog atter her gentage, at det samme gælder de Resultater, der er naaet i »optimale Substrater«.

Først naar man gennem Forsøgene faar et Indblik i de Processer, der foregaar, er der en Mulighed for at løse de praktiske Opgaver. Naar det er lykkedes Braun at gøre saa betydelige Fremskridt paa dette Omraade, skyldes det meget de forskellige Ændringer i Tekniken, som han har indført.

For at hindre, at Substratet i Virkeligheden indeholder andre Stoffer end de, man selv har tilsat, er der til alle Dyrkningsbeholdere anvendt Jena-Resistensglas[81a]). Almindeligt Glas afgiver nemlig ret store Mængder Salt til de Vædsker, det er i Berøring med, ligesom Reaktionen kan ændres meget. I enkelte Forsøgsrækker er der anvendt Kulturapparater af Bjergkrystal[81d]) for helt at udelukke disse Fejlkilder.

Dernæst har han ved at tilsmelte Kulturerne med Parafin aflukket dem fra Termostat-Luften; idet det har vist sig[81c]), at et Substrat, som indeholder alle nødvendige Næringsstoffer, men med Undtagelse af en Kvælstofsforbindelse, alligevel kan blive et brugbart Substrat, blot det henstaar i Termostaten, hvor Luften kan diffundere ind i Kulturbeholderen. En Del Stoffer (NH_3), der findes i Termostatluften, opløses og kan udnyttes af Bakterierne. Dette Forhold er sikkert af stor Betydning og Aarsagen til mange tidligere Uoverensstemmelser.

Endnu en Ændring maa omtales, da den er af stor Vigtighed. Det viste sig snart, at Bakterierne, naar de levede i de syntetiske Substrater, ofte havde et meget stor Iltbehov og derfor kun voksede lige i Overfladen. Dette Forhold havde allerede *Cramer*[82]) iagttaget ved sine Forsøg med Uschinskys Næringssubstrat og havde med Held søgt at forbedre Væksten ved at anvende Petriskaale som Kulturbeholdere. Allerede straks fra Begyndelsen af sine Forsøg har *Braun* indset Betydningen af dette og har siden systematisk sørget for at dække dette store Iltbehov. For at opnaa dette anvender han til Kulturene smaa Erlenmeyer's Kolber (50 cm^3) indeholdende 5—10 cm^3 Substrat, saa-

ledes at Vædsken kun danner et ret tyndt Lag. Senere har han yderligere vist, at den samme Virkning kan naas ved at anvende ret vide Reagensglas og lade dem ligge i næsten vandret Stilling.

Det er dog ikke blot i »syntetiske« Substrater at den forøgede Ilttilførsel giver forøget Vækst, ogsaa i Bouillon ser man under disse Forhold rigeligere Vækst, hvad Heckscher har vist for Colibakterier, ligesom Principet jo er anvendt ved Difterikulturer til Toxinfremstilling. Men medens det ved Bouillon kun er en Forbedring, er det ved mange »syntetiske« Substrater en Nødvendighed.

Jeg vil allerede her nævne, at Væksten i disse Substrater i nogle Tilfælde har en lang og uregelmæssig Latenstid og herved adskiller sig fra Væksten i »optimale« Substrater. Man kan saaledes se, at en tilsaaet Kultur kan henstaa indtil 14 Dage uden synlig Vækst, for derefter pludselig at begynde at vokse med almindelig Hastighed. Dette Forhold er mest fremtrædende første Gang en Bakterie overføres i et saadant Substrat og svinder efter nogle Passager. Dette vil jeg senere omtale nærmere og især den Betydning, det har for Vækstthæmningsforsøgene.

Braun og hans Medarbejdere har foretaget mange Undersøgelser for at se, hvorvidt Bakterierne bevarede deres karakteristiske Egenskaber ved Dyrkning paa syntetiske Substrater. De har herved aldrig fundet væsentlige Forandringer, specielt ikke med Hensyn til Gæringsevnen eller Gramfarvning, ligesom Virulens og Evnen til Toxindannelse[78]) ofte bevares uforandret trods talrige Passager. Derimod er der fundet mindre Forandringer af deres Morphologi[81a]), deres Agglutinering[70]) og endelig, hvad der har særlig Betydning for dette Arbejde, nogen Formindskelse af deres Resistens[70]). Uden at finde større Svingninger viser Forsøgene, at de Bakterier, der har vokset paa et »syntetisk« Substrat, er noget mindre resistente baade overfor termiske og kemiske Paavirkninger end Bakterier, der har vokset paa Peptonbouillon. Angaaende Undersøgelserne overfor kemiske Paavirkninger maa jeg dog hævde, at de fundne Værdier er meget usikre, da der, trods Forsøg derpaa, ikke er taget tilstrækkeligt Hensyn til det hæmmende Stofs Binding til Peptonet.

For alle Næringssubstrater spiller foruden alle de Stoffer, hvoraf det er sammensat, Brintjonskoncentrationen en stor Rolle, idet Bakterierne kun kan formere sig i Medier, hvor denne ligger indenfor et ret begrændset Omraade paa begge Sider af Neutralpunktet. Man maa derfor altid indstille sine Næringssubstrater paa en ganske bestemt pH; anvender man i et Forsøg en anden Brintjonskoncentration, maa man altid først undersøge den normale Vækst under disse Omstændigheder.

Substratets Brintjonskoncentration har saaledes en meget stor Betydning for Bakteriernes Vækst, men endnu større bliver Indflydelsen ved Væksthæmningsforsøgene.

Som Følge af de forskellige Reaktioner, der indtræder ved Tilsætning af det hæmmende Stof til Substratet, er det kun den endelige pH, der herved opnaas, der har Betydning for Væksthæmningsforsøget, et Forhold, man ikke tidligere har paaagtet. Hvor stor Forandringen af pH bliver, afhænger ikke blot af det Stofs Mængde og Reaktion og af Substratets oprindelige pH, men ogsaa af Substratets »Pufferkapacitet«. For Hæmningsforsøgene kan Reaktionsforandringen faa meget stor Betydning ved direkte at skade Bakterierne, saaledes at det opnaaede Resultat intet sikkert siger om vedkommende Stofs væksthæmmende Egenskaber, men er et Resultat af en Kombinationsvirkning. Dette gør sig saaledes gældende i mange af Eisenberg's Forsøg, hvorfor disse er lidet værdifulde til Studiet af, hvorledes Væksthæmningen fremkommer; det samme gør sig til Dels gældende i *Kuroya*'s[60]) Forsøg, her har man ganske vist bestemt pH i det endelige Substrat, men da man intet har foretaget for at udjævne Forskydningerne, bliver Betydningen af Maalingerne mindre. Ved Desinfektionsforsøgene har man, som omtalt, interesseret sig mere for Betydningen af Reaktionen af den desinficerende Vædske, saaledes undersøgte allerede v. Behring[22]) Betydningen af Syretilsætning til Sublimat, et Forhold som senere er undersøgt af *Joachimogli*[83]), *Nagel*[84]), *Ørnstein*[85]), som alle finder stærkere Virkning i sur Vædske, men da man i de fleste af Tilfældene ikke har bestemt pH og slet intet kender til Sublimatets Dissociation under disse Forhold har Forsøgene ingen Betydning til at udrede den sure Reaktions Indflydelse.

Men Brintjonkoncentrationen indvirker desuden paa en helt anden Maade paa Substratet, idet den har stor Indflydelse paa mange af de hæmmende Stoffers Dissociationsforhold. Dette gør sig især gældende, naar det drejer sig om svage Baser eller svage Syre og Salte heraf. I disse Tilfælde maa den giftige Faktor altid være i Ligevægt med Brintjonerne, og en Forandring af deres Koncentration vil derfor fuldstændig ændre den hæmmende Virkning.

Som omtalt er der i de senere Aar foretaget mange Undersøgelser over dette Forhold ved Forsøg med chemotheropeutiske Stoffer. Saaledes har *Michaelis* og *Dernby*[86]) og *Michaelis* og *Hayachi*[87]) vist den store Indflydelse pH har paa Vækstthæmningsforsøg og langvarige Desinfektionsforsøg med Chininalkaloider og Rivanol. Ved det sidste Stof fandtes en Stigning til 32 Gange af den hæmmende Virkning, medens pH forandredes fra 5.2 til 8.4; dette blev bekræftet af *Bloch* og *Schiff*[88]), som fandt en lignende Stigning, idet pH ændredes fra 5.1 til 7.5. Ved Trypaflavin fandtes ingen lignende Forandring, hvad dog *Browning* og *Guldbrandsen*[89]) og *Fleischer* og *Amster*[90]) senere har fundet. Disse sidste undersøgte desuden en Mængde andre Farvestoffer og fandt, at de »basiske« Farvestoffer bliver giftigere, naar Reaktionen bliver mere alkalisk, medens Forholdet er omvendt ved de sure Farvestoffer. *Schiemann* og *Baumgarten*[91]) bekræfter Forholdet ved Trypaflavin. *Sartorius*[49]) undersøger, som jeg allerede tidligere har omtalt, en Mængde af de Stoffer, der anvendes til differentialdiagnostiske Næringssubstrater, og finder tilsvarende Forhold; man lægger Mærke til, at Brilliantgrønt og lignende Stoffer bliver giftigere, naar Substratet bliver mere surt.

Som omtalt viser *Vermast*[63]), *Waterman*[65]) og *Kuroda*[64]) ved Desinfektionsforsøg tilsvarende Virkning paa mange mere enkelt sammensatte aromatiske Forbindelser Phenol, Tymol, Kresoler, Benzoesyre og Salicylsyre.

Til Forklaring af alle disse Forsøg antager man, at Brintjonskoncentrationens Indflydelse paa Dissociationen er den væsentlige Aarsag, hvilket ogsaa er det mest sandsynlige, men det

er kun bevist i de af Vermast[63]) foretagne Forsøg over Benzoesyre.

I en Del af Forsøgene har man yderligere søgt Forklaringer ved indtrufne Forandringer af Overfladespændingen[86]) eller af Lipoidopløseligheden[63]). At disse Forhold spiller en vis Rolle er allerede omtalt, men i dette Sammenhæng maa de opfattes som sekundære Faktorer.

Som en Fordring til alle Væksthæmningsforsøg maa man derfor sætte: Bestemmelse af pH efter det hæmmende Stof er tilsat. I de Tilfælde, hvor der indtræder en Forandring af Reaktionen, maa man søge at udjævne denne ved Tilsætning af Syre eller Alkalier, saaledes at Forsøget bliver udført ved den Reaktion man ønsker.

Foruden disse let forklarlige Maader, hvorpaa Brintjonskoncentrationen spiller en Rolle, finder man endnu en Virkning af Substratets pH. Man finder saaledes, at en Forandring af pH, uden Forandring af den giftige Faktor, kan styrke eller svække den hæmmende Virkning, hvilket igen vil sige, at Bakteriernes Resistens er afhængig af det Medie, hvori de befinder sig.

Det er lige omtalt, at der for Desinfektionsforsøgenes Vedkommende er foretaget talrige Forsøg, men at Forsøgenes Betingelser ikke har været tilstrækkelig veldefinerede til nogen Slutning om Variation af Bakteriernes Resistens. Som en Undtagelse kan man dog regne *Ørnsteins*[85]) Forsøg med Sølvsalte, da man her nogenlunde kan beregne Dissociationsforholdene. Han finder, hvad jeg senere ved direkte Maaling viser, at Bakterierne er mere følsomme for Ag^+, naar det omgivne Medie er mere alkalisk.

Om Maalinger af Bakteriers Vækst.

Da Væksthæmningen er defineret som Hæmning af en Bakteries Vækst i et Næringssubstrat, vil det have stor Betydning ogsaa at kende Vækstens Forløb i Substratet uden Tilsætning af væksthæmmende Stof.

Det er, som tidligere fremhævet, især den fuldstændige Hæmning af Væksten, man ønsker at bestemme, men ogsaa den sva-

gere Hæmning kan have megen Interesse for Studiet af Stoffets Virkning. Endvidere vil den absolutte Hæmning ofte være bedre defineret ved Undersøgelsen af Overgangen mellem delvis og fuldstændig Hæmning.

Maaling af Bakteriernes Vækst har været Genstand for mange Undersøgelser, og der har vist sig overordentlig mange tekniske Vanskeligheder ved at udforme en virkelig eentydig Metode.

Den historiske Udvikling af dette Spørgsmaal vil jeg ikke komme nærmere ind paa, men henvise til *Heckschers*[92]) og *K. A. Jensens*[48]) Arbejder over dette Spørgsmaal.

Medens den »normale« Vækst saaledes har været Genstand for talrige Undersøgelser, har disse Undersøgelsers Betydning for Væksthæmningsspørgsmaalet kun været lidet paaagtet. Først i de to nævnte Arbejder har man søgt at komme nærmere ind paa dette, men er hidtil kun naaet til de forberedende Undersøgelser.

Heckscher har særlig beskæftiget sig med de noget senere Stadier af Væksten, K. A. Jensen har især undersøgt de første Timers Vækst. Jeg vil derfor omtale det sidste Arbejde først, selv om det er fremkommet efter Heckschers.

Det væsentlige Udbytte af K. A. Jensens Arbejde er Omgivelsen af en direkte Metode til Maaling af en Bakteries Vækst, kvantitativt og morphologisk. Ved Anvendelse af *J. Ørskovs*[93]) Metode til Undersøgelse af Bakteriens Morfologi og Vækst er det lykkedes ham at følge en Bakteries Vækst fra Time til Time.

Denne sindrige Metode synes at give meget ensartede Resultater i kvantitativ Retning og giver Lejlighed til ualmindelige sikre morphologiske Studier. I det hele giver Metoden et meget fyldestgørende Billede af en Bakteries Vækst de første 2½ Time under de givne Omstændigheder. Selve den anvendte Kulturmetode slutter sig nær til de i Bakteriologien almindelig anvendte Metoder.

Ved Metoden bestemmes: 1) Bakterieforøgelsen af hver enkelt Bakterie, der undersøges. 2) Hastigheden af Væksten. K. A.

Jensen anvender som Maal for denne en Index = det Antal Bakterier een Bakterie udvikler sig til paa en given Tid (½ eller 1 Time). Andre anvender som Udtryk for Væksthastigheden i Stedet Generationstiden, den Tid det tager at forøge Bakterieantallet til det dobbelte. Man faar saaledes $b = a\ 2^n$, hvor a er det oprindelige Antal Bakterier, b Antallet af Bakterier efter, T Minutter, n Antallet af Generationer, Generationstiden $\frac{T}{n}$ $n = \frac{\log b \div \log a}{\log 2}$. At tale om en saadan Generationstid er selvfølgelig kun helt rigtigt, saafremt alle Bakterierne deler sig lige hurtigt, hvad man absolut ikke kan vente; alligevel giver Udtryksmaaden et godt Billede af Væksten. 3) Muligheden for nøjagtige morphologiske Undersøgelser af de enkelte Bakterier under Væksten. De herved vundne Resultater er af megen Betydning ved alle bakteriologiske Forsøg. 4) Nøjagtig Bestemmelse af Latenstiden for de enkelte Bakterier. Herigennem lykkes det at vise den meget store Forskel, der er i friske Bakteriestammers og Laboratoriestammers Latenstid. 5) I nogle Tilfælde kan Spiringsprocenten bestemmes, dennes Størrelse er dog mindre veldefineret end de øvrige. Medens Metoden saaledes er ualmindelig exakt under disse bestemte Forsøgsbetingelser, er dens Omraade noget indskrænket, da man kun har den meget korte Iagttagelsestid, og da man er bundet til det faste Substrat. Endvidere er det et begrænset Antal Bakterier, man kan undersøge, og da sandsynligvis kun faa af de tilsaaede Bakterier kommer i Vækst i Hæmningsforsøgene, vil man her møde en stor Vanskelighed ved Metodens Anvendelighed. Det kan dog ikke nægtes, at Anvendelsen ved Væksthæmningsforsøg paa flere Omraader var ønskelig. *K. A. Jensen*[40]) har selv vist, at den kan anvendes til at klarlægge visse Forhold ved disse Undersøgelser.

Da K. A. Jensens Metode til at studere den senere Vækst ikke har nogen større Betydning for det foreliggende Emne, vil jeg ikke omtale den nærmere. De ved Metoden vundne Kurver, giver et Udtryk for visse Egenskabers Svingninger, men giver, som han selv fremhæver, intet sikkert Billede af den opnaaede Vækst.

Ved de af Heckscher angivne Metoder belyses væsentlig andre Stadier af Væksten. Deres Nøjagtighed og Eentydighed er mindre end de lige omtalte, men som det fremgaar af det følgende, frembyder en af Metoderne et godt Grundlag til Studiet af Bakteriernes Vækst under Hæmningen.

Den af Heckscher angivne Tællemetode har jeg ikke prøvet og kan saaledes ikke belyse den nærmere. Ved hans Forbedring af Nephelometrien har man faaet et godt Middel til at bedømme en Bakteries Vækst under varierende Omstændigheder, ligesom de af Heckscher udførte Forsøg allerede antyder mange af de af K. A. Jensen nærmere definerede Vækstfaser. Det maa dog allerede fremhæves her, at de vundne Resultater er lidet veldefinerede, og Anvendelsen af de fundne Værdier maa ske med stort Forbehold. Særlig maa man ikke vente at faa nøjagtige Bestemmelser af Bakterietallet, et Forhold som Heckscher selv gør opmærksom paa og som senere er yderligere fremhævet af K. A. Jensen.

Det maa dog ogsaa hævdes, at det ved mange Forsøg ikke spiller saa megen Rolle at opnaa særlig stor Nøjagtighed, blot man har en Metode, hvorved man, omend det kun er i store Træk, kan følge Kulturen fra Time til Time og saaledes faa et tydeligt Billede af Væksten.

Som det senere omtales, har jeg modificeret Metoden en Del for at opnaa bedre Resultater. Grundene til at jeg har foretaget disse Ændringer er for det første Ønsket om at gøre Metoden mere følsom, saaledes at man kan følge Væksten fra et tidligere Tidspunkt. Dernæst har jeg villet gøre Metoden mere enkel for derved at undgaa Anvendelse af saa mange Kulturer til hvert Forsøg, idet man ved Heckschers Metode maa udtage een Kultur for hver Maaling. Ved den grafiske Fremstilling af Resultaterne afsætter Heckscher Tiden som Absisse og Bakterieantallet (ved den nephelometriske Værdi) som Ordinat. Et mere oplysende Billede opnaas dog ved at afsætte log (Bakterieantallet), idet man herved opnaar samme Stigning for hver »Generation«. En Tilvækst af 100 Bakterier vil saaledes spille en større Rolle, hvis man er begyndt med 10 Bakterier, end hvis man er startet med 100, men paa Heckschers Kurver vil den syne ens.

Om Nephelometri, med Angivelsen af et nyt Nephelometer til Bestemmelse af Bakterievæksten direkte i Kulturen.

Til Bestemmelse af Mængden af Bakterier i en flydende Kultur falder det naturligt at søge et Maal for den Uigennemsigtighed, der altid fremkommer ved Tilstedeværelsen af Bakterier i en klar Vædske og som netop er det Tegn, man anvender til Erkendelsen af Væksten.

For at naa dette kan man maale den Forandring Lyset undergaar, idet det passerer gennem Bakteriesuspensionen. Man kan bestemme denne udfra 3 forskellige Principer, hvoraf man dog kan udskyde Maaling af den Varme, der dannes ved Lysets Absorbtion i Bakterierne. Derimod kan man maale det Lystab, der er fremkommet ved Passagen, og endelig kan man maale det Lys, der af Bakterierne er kastet ud i andre Retninger.

Maalingen af Lystabet kan foretages paa ret mange Maader og er for tættere Suspension ret nøjagtig, saafremt man til Sammenligning anvender flere Prøver af forskellig Fortynding. Derimod bliver Resultatet ikke nøjagtig, hvis man søger at opnaa de forskellige Styrkegrader ved at variere Suspensionslaget. Herhjemme har *F. Wulff*[94]) angivet en saadan Metode, hvor Tætheden bedømmes ved Sammenligning med Kaolinopslemninger, idet man iagttager Bogstaver af bestemt Format gennem Glassene. Jeg har selv ved mine Undersøgelser brugt en lignende Fremgangsmaade for de tættere Kulturer. Da de lidt tyndere af Kaolinopslemninger forandres ret hurtigt, idet de smaa Partikler klumper sig sammen, har jeg opslemmet Kaolinen i en meget klar Gelatine og derved faaet en holdbar Suspension. For at hindre Bakterievækst har jeg ovenpaa Gelatinen hældt et Lag 10 % Formalin; herved omdannes endvidere Gelatinen, saa at den ikke smelter i Varmen, hvorimod Gennemsigtigheden bevares. Til Fremstilling af disse Sammenligningsglas har jeg anvendt samme Reagensglas som er anvendt til mine Kulturer og til de nephelometriske Maalinger. Glassene er fremstillede, saaledes at hver Prøve indeholder den halve Mængde Kaolin af den foregaaende.

Saasnart Bakteriesuspensionen bliver tyndere kan denne Metode ikke anvendes, da Forskellen mellem de enkelte Styrker bliver meget lille. Man maa derfor anvende det sidst omtalte Maaleprincip, hvor man udnytter det Lys, der kastes til Siderne af Bakterierne, idet et Bundt paralelle Lysstraaler gaar gennem Kulturen. Den Lystaage, som herved opstaar, findes ved alle Suspensioner, ogsaa saadanne, hvor Partiklerne er saa smaa, at Vædsken synes fuldstændig klar. I sidste Tilfælde udgør Lystaagen det for kolloide Opløsninger karakteristiske Tyndall's Fænomen.

Mængden af det Lys, der kastes til Siden, vil være afhængig af Antallet af Partikler, af disses Størrelse og af deres optiske Egenskaber. Hvis de andre Egenskaber holdes konstant, vil Lysmængden paa det nærmeste være proportional med Antallet af Partikler. (Og som *v. Angerer*[95]) har vist, forholder Bakterier sig ganske som Suspensionen af andre Partikler af samme Størrelse).

Dette er udnyttet i den kemiske Analyse, saa man herved ret nøjagtig kan bestemme Mængden af et opslemmet Stof. Maalinger af denne Art kaldes Nephelometri.

I Begyndelsen maalte man nærmest en Kombination af Lystabet og den dannede Lystaage, hvorfor Resultaterne ikke var særlig gode. Først senere indrettede man Apparater, saaledes at kun det afbøjede Lys naaede Iagttagerens Øje; herved bliver Maalingerne nøjagtigere, og især kan man se meget tynde Suspensioner.

Da en Bakteriekultur kan opfattes som en Opslemning af smaa Partikler, kan man forstaa, at den maa kunde gøres til Genstand for nephelometriske Maalinger. *Dreyer* og *Gardner*[96]) var de første, der anvendte Nephelometrien til Studiet af Bakteriernes Vækst, men først efter Heckschers Forbedring af deres Teknik har man faaet en anvendelig Metode til dette Formaal. Betydningen af saadanne Maalinger er yderligere uddybet ved *v. Angerers*[95]) Undersøgelser, der viser at Bakterierne paa det nærmeste forholder sig som andre Partikler af samme Størrelse.

Nephelometrien har siden været anvendt i Bakteriologien til forskellige Undersøgelser. *M. Hotchkiss*[97]), som anvender en lidet følsom Metode til Maaling af Væksten under Hæmning og Stimulation, opnaar dog ingen Resultater af Betydning. I alle de følgende Arbejder, ligesom i *v. Angerer*'s[95]), er Maalingerne udført med Kleinmanns Nephelometer, det mest anvendte og det nøjagtigste af alle de Apparater, der er fremstillet til kemisk Analyse. Til bakteriologiske Undersøgelser med levende Bakterier er det mindre egnet, da Apparatets Dele neddyppes i den Suspension, der skal maales.

Bechhold og *Reiner*[98]) og *Munter*[99]) finder gode Resultater ved Bestemmelse af Antallet af Bakterier i Vacciner. *Liese*[100]) søger at bestemme Størrelsen af Bakteriernes Overflade ved Sammenligning med Kulturer med kendt Antal Bakterier af kendt Størrelse, en Metode, der dog synes at være meget begrændset. *Vignanti* og *Schnabel*[101]) prøver at maale de Forandringer Bakterierne undergaar ved Desinfektion (Hæmning) med Kobbersalte. De finder, at den nephelometriske Værdi derved forandrer sig en Del og mener, at dette skyldes Forandringer i Bakteriernes Kolloider.

Sammenfatter man alt, hvad der er fundet ved Anvendelsen af Nephelometrien i Bakteriologien, kan man sige: 1) at de nephelometriske Maalinger giver et Udtryk for en flydende Kulturs Vækst. 2) Man kan med ret stor Nøjagtighed bestemme Antallet af Bakterier i en ellers klar Vædske, naar man kender den nephelometriske Værdi for en anden Opslemning af samme Bakterie i samme Vækststadie, og hvor Antallet er bestemt paa anden Maade. 3) Under specielle Forhold kan Nephelometrien anvendes til Bestemmelse af Bakteriers Overflade og maaske til Undersøgelser af Forandringer i deres Struktur, men disse Maalinger maa man vurdere med megen Kritik.

Af de Undersøgelser, der foreligger over nephelometriske Maalinger af Bakterievæksten, har kun *Heckscher*'s[83]) nogen Betydning. Hans Maalemetode, som jeg vil omtale senere, giver nøjagtige Resultater, naar Maalingerne udføres paa Fortyndinger af samme Kultur, og den tilfredsstiller derved de Fordringer, man maa stille til den. Derimod kan man, som jeg allerede

har omtalt, ikke bestemme Antallet af Bakterier under Væksten, idet deres Størrelse forandres.

Der er dog derfor ingen Grund til at opgive Nephelometrien til Studiet af Bakterievæksten; den Størrelse, man maaler, vil altid være et Udtryk for Kulturens Vækst, da baade Forøgelse af Bakteriernes Størrelse og Antal vil give sig til Kende i samme Retning. Endvidere ser man, at de nephelometriske Værdier *i de enkelte Faser,* hvor Bakterierne beholder samme Form og Størrelse, *vil stige parallelt med Bakterieantallet,* saaledes at Stigningen i alle Faser vil være lige stor for samme forholdsvise Forøgelse af Bakterieantallet. Kun i de Perioder, hvor der foregaar stærk Ændring af Bakteriernes Form og Størrelse, vil man ikke kunde slutte noget om Bakterieantallets Svingning af de nephelometriske Forandringer. Man har derfor i Nephelometrien en god Metode til at følge en Bakteries Vækst i et flydende Kulturmedie, men man kan ikke vente at faa nogen Oplysning om Bakteriernes absolutte Antal. Ved Bestemmelsen af den Teknik, man vil anvende, vil det, som jeg allerede har fremhævet, være af mindre Betydning, om Metoden er meget nøjagtig, saaledes som den maa være til kemiske Analyser. Derimod vil det være af Vigtighed, at man kan følge Kulturen fra et meget tidligt Tidspunkt, hvilket vil sige, at den skal være meget følsom. Endvidere maa Metoden være hurtig og let at udføre, og Kulturen maa ikke tage Skade af Maalingen.

De forskellige Nephelometre, der er angivet til kemiske Analyser og som er anvendt ved de omtalte Undersøgelser, vil jeg ikke her komme nærmere ind paa, idet de, som allerede nævnt, ikke er egnede til Undersøgelser af levende Kulturer.

Heckschers Nephelometer er en Forbedring af det Dreyer og Gardner har angivet, og det adskiller sig ligesom deres fra de Apparater, man ellers anvender til kemisk Brug. Forskellen ligger deri, at Maalingen foretages ved Sammenligning med en hel Række Fortyndinger af en Suspension. Paa denne Maade bliver man fri for at udføre saadanne Korrektioner, som ellers er nødvendige, naar man kun har een Suspension til Sammenligning og varierer Værdien ved Forandring af Opslemningens Dybde.

Heckscher's Metode udmærker sig fremfor Dreyer og Gardner's ved den simple Anordning, hvorved kun det afbøjede Lys naar Iagttagerens Øje.

For at Nephelometret kan tilfredsstille de Fordringer, jeg har stillet, har jeg foretaget en Del Ændringer af Apparatet, saaledes som jeg allerede har omtalt.

Saafremt man vil anvende større Glas end de Heckscher har angivet, vil de to vigtigste Fordringer opfyldes. Dels vil Maaleglasset samtidig kunde anvendes som Dyrkningsglas og Maalingen derfor foretages uden Indgreb paa Kulturen, dels vil man kunne iagttage meget mindre Bakteriekoncentrationer. Jeg har derfor indrettet mit Nephelometer saaledes, at denne Forandring kunde gennemføres. Dette har jeg væsentlig opnaaet ved en Forøgelse af alle Dimensioner af Heckschers Apparat. Af Tegningen (Fig. 1) ses, at jeg desuden har foretaget enkelte Forandringer, mest for at undgaa at Lyset reflekteres for stærkt fra Glassene.

De Glas, der skal bruges til Maaleglas, skal altsaa samtidig anvendes til Kulturglas; de skal være ret vide, og de maa ikke afgive Alkalier eller andre Stoffer til Kulturmediet. De maa endvidere være meget klare og skal baade kunne taale at steriliseres og gennemgaa en grundig kemisk Rensning. Jeg har valgt at bruge Reagensglas (16 cm $\times$ 18 mm) af Jena-violax Glas, som opfylder de stillede Fordringer godt; men de har den Fejl, at de ret let gaar itu.

En væsentlig Betingelse for at anvende Apparatet er, at disse Glas mellem Forsøgene gennemgaar en meget grundig Rensning. Jeg vil derfor i Enkeltheder beskrive den Teknik, jeg selv har anvendt. Efter et Forsøg er sluttet, autochaveres Kulturerne — Glassene skylles — koges ¼ Time i en Opløsning (c. 2 %) af Natriumbicarbonat og Kalium — natriumtartrat — de skylles atter, derefter fyldes de med kogende Svovlsyre — kaliumbicromat Opløsning og renses med en Flaskerenser omviklet med Vat. De dyppes derefter i kogende Svovlsyrekaliumbicromat Opløsning, saa ogsaa den udvendige Flade renses helt — tilsidst skyl-

les de meget grundigt med destilleret Vand. Herefter aftørres de og poleres fuldstændig blanke. Nu tørsteriliseres de og paafyldes under aseptiske Kauteler med sterilt Næringssubstrat.

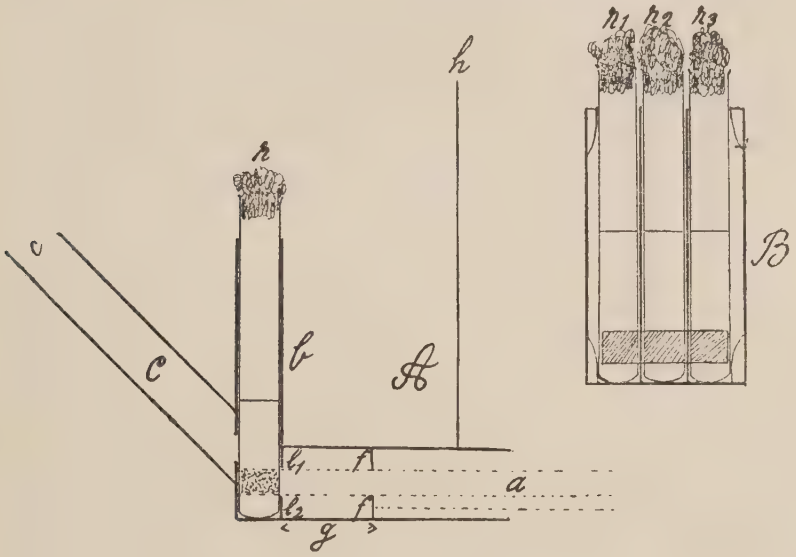

Fig. 1.

Tegning af det anvendte Nephelometer.

A et Længdesnit. B et Frontalsnit gennem b.

Apparatet er fremstillet af Zinkplader, der indvendig er malet fuldstændig mat sort. Lyset, der kommer fra en kraftig Lampe i 1 m Afstand, kommer ind i a. I b anbringes det Glas r, der skal undersøges, og det iagttages gennem c. Den punkterede Linje angiver Lysets Retning; man ser, at intet direkte Lys kan naa Iagttagerens Øje, og r findes derfor fuldstændig mørk, saafremt Vædsken deri er fuldstændig klar. Findes derimod smaa Partikler i Vædsken, vil noget Lys kastes op gennem c. Det punkterede Parti angiver den Del af Vædsken, der rammes af det direkte Lys. De smaa Fremspring f hindrer dels Lyset i at ramme e_1 og e_2's Kant, som ikke kan gøres helt mat, dels undgaar man, at Partiet g rammes af noget Lys. Dette er af stor Betydning, da dette Parti kan ses af Iagttageren og derfor maa være absolut sort. h er en stor Skærm, der skygger for Lampens Lys. Lampen er iøvrigt anbragt i en Kasse, saaledes at der kun kastes Lys hen mod Apparatet.

Paa B er det skraverede Parti Aabningen mellem e_1 og e_2, og viser det Omraade, der belyses af det direkte Lys. r_1 og r_3 er Sammenligningsglas, r_2 den Kultur, der skal undersøges.

I sit Arbejde omtaler Heckscher, at man ikke maa gøre Glassene for vide, da Lystaagens Styrke isaafald ikke følger de omtalte Regler. Dette skyldes, at de først afbøjede Lysstraaler i dette Tilfælde atter vil drejes af de Partikler de senere møder. Dette spiller dog ringe Rolle ved de tynde Suspensioner og nærmest ingen, naar man anvender forskellige Fortyndinger til Sammenligning ved Maalingerne.

Derimod kan man ikke maale saa tætte Suspensioner i vide Glas som i de snevre, en Vanskelighed, der dog, som omtalt, kan overvindes ved i dette Tilfælde at anvende Gennemsigtighedsmaalinger.

Metodens største Vanskelighed ligger i at fremstille gode Sammenligningsprøver. Det er ikke lykkedes mig at faa en holdbar Bakteriesuspension i Formalin Saltvand, saaledes som Heckscher angiver, idet Bakterierne i de tynde Opslemninger klumper sammen efter ca. 1 Uge.

For de noget tættere Suspensioner har jeg opnaaet at faa ret holdbare Prøver ved at opslemme og fortynde Bakterierne i meget klar Gelatine og derefter behandle Glassene med Formalin — ligesom ved de omtalte Kaolinglas. Da Gelatinen giver et svagt Tyndalls Fænomen, selv om den er renset meget omhyggeligt, maa endog de mindst koncentrerede Suspensioner ved disse Prøver give et meget stærkere Lys end Gelatinen kan fremkalde. Det er derfor kun paa et begrændset Omraade denne Metode kan anvendes; til de endnu tyndere Suspensioner er det ikke lykkedes mig at finde nogen holdbar Sammenligningsprøve, og jeg har derfor fremstillet friske Bakteriefortyndinger til hvert Forsøg. Dette lader sig let gøre med det anvendte Nephelometer, idet man heri fremstiller en Bakterieopslemning svarende til en af de holdbare Prøver, og heraf laver man saa de nødvendige Fortyndinger. I Stedet for som Heckscher at anvende Formalin-Saltvand har jeg fremstillet disse Fortyndinger i det anvendte mineralske Substrat og tilsat lidt Formalin.

Den Fortynding, som netop kan skelnes fra Substratet uden Bakterier, er bestemt en Gang for alle og er betegnet nephelometrisk Værdi 1. Det næste Glas i samme Række, der indeholder dobbelt saa mange Bakterier, er betegnet nephelometrisk Værdi

2 og saaledes fremdeles. En Fortyndings Nummer n angiver saaledes 1 mere end den Potens af 2, hvormed man skal multiblisere Antallet af Bakterier a i Glas 1, for at faa Mængden A i dette Glas.

$$A = a \cdot 2^{(n \div 1)}$$

Man ser saaledes, at Fortyndingsrækken 1—2—3— . . . udtrykker Stigningen af Bakterierne i en logaritmisk Række.

Som allerede nævnt har jeg maattet bruge forskellige Sammenligningsglas til de forskellige Fortyndinger.

Nr. 1—5 friske Suspensioner af den anvendte Bakterie.

Nr. 5—9 friske Suspensioner af den anvendte Bakterie i Gelatine fikseret med Formalin.

Nr. 9—13 friske Suspensioner af Kaolin i Gelatine fikseret med Formalin.

Nr. 1—9 er anvendt til nephelometriske Maalinger, 9—13 til Gennemsigtighedsmaalinger.

Til Opslemningerne har jeg anvendt en 20 Timers flydende Kultur. For at have et Skøn over Antallet af Bakterier har jeg foretaget nogle Bestemmelser af Bakterieantallet ved Pladespredninger og fundet, at der i Opslemning med nephelometrisk Værdi 10 findes lidt mindre end 1000 Mil. Bakterier i 1 cm^3. Ved nephelometrisk Værdi 1 maa der derfor findes ca. 1 Mil. Bakterier pr. cm^3.

Jeg har ikke uddybet disse Bestemmelser, da det vilde give et urigtigt Billede af Metoden; man vilde ganske sikkert kunne opnaa meget nøjagtige Resultater ved at foretage Tælninger og Fortyndinger og paafølgende nephelometriske Bestemmelse, men dette svarer slet ikke til det, man opnaar ved Anvendelsen af Metoden til Studiet af Bakteriernes Vækst. Man faar her et godt Skøn over Vækstens Forløb, som er fuldstændig tilstrækkeligt til at se de store Afvigelser, man vil undersøge. Forsøgene er som alle bakteriologiske Undersøgelser underkastet saa mange smaa Uregelmæssigheder, man ikke helt behersker, at den reelle Nøjagtighed bliver større ved at bruge en grov men paalidelig Metode. Under Metodens Anvendelse til Vækstmaalinger har jeg af Hensyn til Nøjagtigheden stillet den eneste Fordring,

at den Værdi, man finder ved nephelometrisk Maaling af en Fortynding af en Kultur, skal ligge nærmest den Prøve, hvis nephelometriske Værdi svarer til Beregningen. Dette har ogsaa altid vist sig at være Tilfældet. Jeg vil belyse det ved et Eksempel.

En Bouillonkultur centrifugeres let og viser nu nephelometrisk Værdi 10. En Draabe (= 0,05 cm^3) af Kulturen sættes til 5 cm^3 mineralsk Substrat og viser nephelometrisk Værdi 3. Fortyndinger er 1/100 2^x = 100 x = 6,64, hvorfor den rigtige nephelometriske Værdi vilde være 10 ÷ 6,64 = 3,36.

Dette Eksempel er taget fra et Forsøg; foretager man en tilsvarende Maaling for at prøve Metoden, faar man større Nøjagtighed, idet man først vil søge at naa Værdien 10 saa nær som muligt. At det forholder sig saaledes ses meget tydeligt, naar man fremstiller en hel nephelometrisk Række af en Kultur; denne ny Række stemmer da helt overens med Standardrækken.

Paa Grund af den store Følsomhed ved Anvendelsen af de vide Glas fremkommer en Vanskelighed, idet alle peptonholdige Næringssubstrater selv fremkalder et tydeligt Tyndall's Fænomen og derved hindrer Iagttagelsen af finere Suspensioner. Dette kan man dog fuldstændig undgaa, naar Bouillonen henstaar helt roligt i ca. 3 Maaneder efter Fremstillingen, idet man nu finder en nephelometrisk Værdi < 1. Et Forhold jeg desværre først havde Lejlighed til at iagttage mod Afslutningen af mine Forsøg.

For at undgaa denne Vanskelighed havde jeg været nødt til ved forskellige Udfældninger at klare Næringssubstraterne. Jeg gjorde først Substratet tydeligt eddikesurt og tilsatte noget Hønseæggehvide, som jeg derefter igen udfældede ved Kogning. Opløsningen filtreredes, hvorefter jeg atter neutraliserede den og fremkaldte en let Udfældning af Fosfaten ved Tilsætning af lidt $CaCl_2$. Efter 10 Minutters Kogning filtreredes Substratet mange Gange, hvorefter det steriliseredes 5 Minutter ved 100°. For nu at opnaa en bestemt pH tilsatte jeg under aseptiske Kauteler lidt fortyndet Svovlsyre eller Natriumhydroxyd. Denne Bouillon, som var et udmærket Næringssubstrat, havde en nephelometrisk Værdi 1.

Maaleresultaterne er, som angivet, betegnet ved det *Glas*'s Nummer, som nærmest giver samme Lysmængde i Nephelometret som den undersøgte Kultur. Der er dog foruden angivet, om Lyset er tydeligt stærkere eller svagere. Aflæsningerne er derfor angivet $< 1, = 1 > 1 < 2, = 2 \ldots\ldots$

Resultaterne er i Vækstforsøgene indtegnet i et Koordinatsystem, saaledes at Tiden er afsat som Absisse og den nephelometriske Værdi som Ordinat.

Da den nephelometriske Værdi danner en logaritmisk Række, vil samme forholdsvise Forøgelse af Bakterier af samme Størrelse altid give samme Stigning af Kurven.

De anvendte Substraters Sammensætning og Maalinger af Væksten i disse.

Jeg har allerede omtalt de Krav, man maa stille til de Næringssubstrater, der skal anvendes til Vækstthæmningsforsøg. Ligeledes har jeg omtalt de almindelige Forhold ved Maaling af Bakteriernes Vækst og har beskrevet den Teknik, der er anvendt i dette Arbejde. Det maa fremhæves, at medens man ikke kunde anse det for nødvendigt at have meget nøjagtig Metode til Bestemmelse af Væksten, er det af megen Betydning, at alle de stillede Betingelser opfyldes saa nøjagtig, som det i det hele taget er muligt.

Jeg vil nu gaa over til at beskrive de anvendte Substrater og Maalinger af Væksten i disse. Jeg har i dette Afsnit væsentligt omtalt de Substrater, der har været anvendt efter hele Forsøgsordningen var udformet. De tidligere anvendte Substrater er behandlet i de specielle Afsnit, og deres Forhold til den senere Teknik er diskuteret der.

Ved Fremstillingen af Næringssubstraterne er der lagt megen Vægt paa Brintjonkoncentrationen, som er bestemt kolorimetrisk ved Sørensens Standardopløsninger. Det er altid den afsluttende pH, der er taget i Betragtning ved Forsøgene, saaledes at der aldrig er foretaget Sterilisering efter denne Bestemmelse. Har jeg ønsket yderligere at forandre pH, er dette foregaaet ved Tilsætning af steril Syre eller Base under aseptiske Kauteler.

Til Kulturbeholder er, som tidligere omtalt, anvendt Jena-violax Reagensglas; til hvert Glas er der under strengt aseptiske Kauteler tilsat 5 cm^3 Næringssubstrat. Glassene har under Væksten været anbragt i næsten vandret Stilling, hvilket enten er opnaaet ved at lægge Reagensglasstativet ned eller ved at anbringe Glassene i en Traadkurv svarende til den af Braun angivne. Til Sammenligning er Væksten ogsaa maalt i Kulturer, hvor Reagensglassene har været anbragt lodret. Nephelometret har været opstillet i Termostaten, saaledes at Kulturerne ikke har været udsat for Temperaturforandringer. Dyrkningen er foregaaet ved 37° C.

Til disse Forsøg er der anvendt een Bakteriestamme, som ogsaa er anvendt til de fleste af Hæmningsforsøgene. Det er en typisk Bact coli commun, stammende fra normal Afføring, det er en Gram -:- lidt bevægelig Stav. Paa Agar vokser den i ret flade, graalige let gennemskuelige, circulære Kolonier, den smelter ikke Gelatinen, plumrer Bouillon diffust. Den forgærer Arabinose, Xylose, Rhamnose, Glukose, Laktose, Maltose, Saccharose, Mannit, Sorbit, Salicin; ikke Dulcit, Adonit, Inosit eller Tartrat. Den er betegnet BcP.

Tilsaaningen er varieret en Del og omtalt ved de enkelte Forsøg.

Maalingerne af Væksten er opført paa de afbildede Kurver efter det Princip, jeg allerede har omtalt.

Selv om Væksten i forskellige Forsøg er ganske ens, kan den Tid, der hengaar, inden en vis Tæthed er naaet, være noget forskelligt; dette skyldes dels at Mængden af tilsaaede Bakterier aldrig bliver helt ens, selv om man ønsker det, dels at Bakteriernes Latenstid er noget variabel. Det vil derfor mere være Vækstkurvens Form end dens Afstand fra Ordinataksen der er af Betydning ved Bedømmelsen. Man faar derfor den bedste Gennemsnitskurve af en Del Maalinger under ens Betingelser ved at sætte en bestemt nephelometrisk Værdi som Udgangspunkt for alle Kurverne. Dette opnaas, idet man fastlægger een Kurve og derefter forskyder de andre parallelt med Abisseaksen, indtil de alle mødes i eet Punkt ved den ønskede nephelometriske Værdi. Ud fra de saaledes anbragte Kurver kan man nu let beregne

en Gennemsnitskurve. Fremstilling af en saadan Kurve har stor Betydning, da det ofte ikke har været muligt at maale alle Kulturerne paa alle de Tidspunkter, hvor det havde været ønskeligt.

1. Kødvandspeptonbouillon.

Som tidligere omtalt er dette Substrat, som giver de fleste Bakterier gode Livsbetingelser, ikke saa vel egnet til Væksthæmningsforsøg. Man kan dog ikke undvære det, og det yder ogsaa anvendelige Betingelser til en Del Forsøg.

Fremstillingen af den jeg har anvendt er omtalt i Afsnittet om den nephelometriske Maaling. Den er meget brugbar, da den selv ved kraftigt Lys kun giver meget svagt Tyndall's Lys, dens nephelometriske Værdi er < 1. Dens Brintjonsreaktion har ligget mellem pH 6,7—7,1, og indenfor dette Omraade har Væksten af den anvendte Bakterie været fuldstændig ens.

Bakteriernes uhæmmede Vækst i dette Substrat gengives paa Fig. 2 og 3, hvor jeg har indtegnet en Del nephelometriske Maaleresultater, dels fra Forsøg udelukkende udførte til dette Formaal, dels fra Kontrolkulturer i Væksthæmningsforsøgene.

Tilsaaningen har været 1 Øse af en 20 Timers flydende Kultur med Undtagelse af Forsøg 1 ($\frac{17}{10}$), hvor der er tilsaaet med 0,05 cm^3 for at kunne følge Væksten lige fra Begyndelsen. Den nephelometriske Værdi var her ved Begyndelsen 3. Jeg opnaaede dog ingen sikre Maalinger før efter 2 Timer, saaledes at det Stykke, der danner Latenstiden, er konstrueret (Punktering).

Paa Fig. 2 er Kurverne afsat saaledes, at de anførte Tidsværdier gælder for Kurve 1. Til Kurve 2 maa der fradrages 2, til Kurve 3 trækkes 4 fra og saaledes fremdeles, idet hver Kurve er forskudt 2 »Timer« til h.

Paa Fig. 3 er de samme Kurver samlet, saaledes at alle Kurverne naar nephelometrisk Værdi 5 paa Tid 3. Man ser, at Forskellen paa de enkelte Kurver er meget lille, hvorfor Beregningen af en Gennemsnitskurve herfra vil give et godt Udtryk for den anvendte Bakteries Vækst paa Kødvandspeptonbouillon. En saadan Kurve A findes paa Fig. 4. (Paa Omraadet neph. 5—10

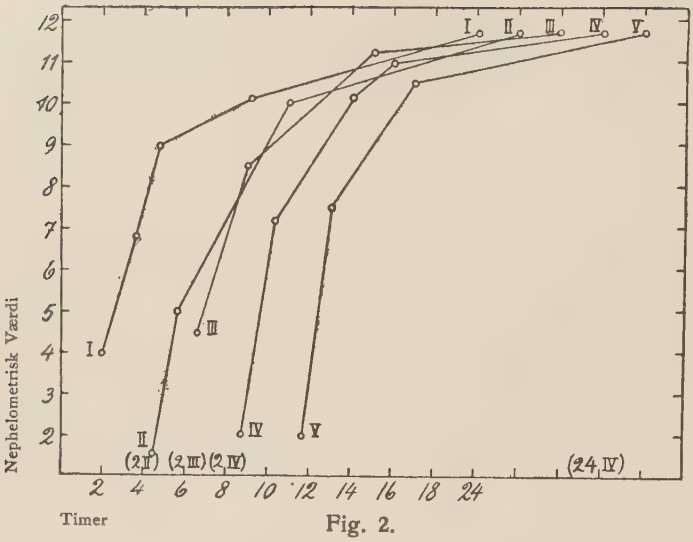

Fig. 2.

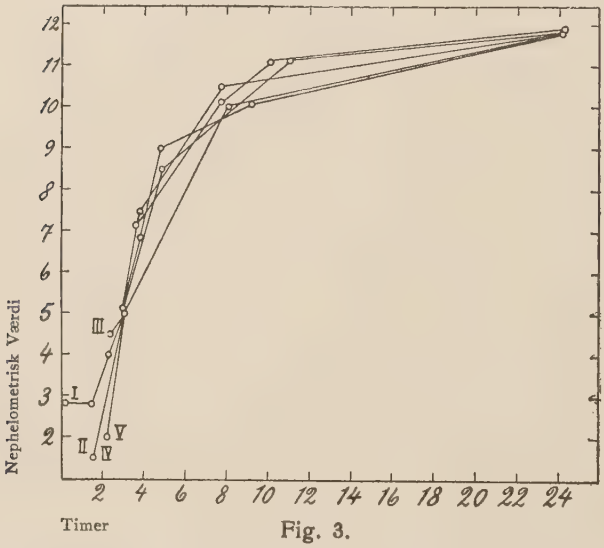

Fig. 3.

Nephelometriske Vækstkurver for B. c. P. i Kødvands-peptonbouillon.

Kurve I. 17/10 Tilsaaning af 0.05 cm af en 20 T. Kult. i Sub. S.
" II. 17/10 " 1 Øse " 20 " " "
" III. 28/6 " 1 " " 20 " " "
" IV. 14/8 " 1 " " 20 " Kødvandpeptonbouillon.
" V. 25/8 " 1 " " 20 " Substrat S.

er Kurve 2 ikke medregnet, da der slet ingen Maalinger er udført der).

Ved alle de anførte Forsøg har jeg sørget for meget rigelig Ilttilførsel, idet Kulturerne har været anbragt næsten vandret i Termostaten. For ligeledes at se hvordan Væksten forløber ved den almindelig anvendte Metode ved Dyrkning i Reagensglas, har jeg ogsaa maalt to Kulturer i lodret Stilling. Resultaterne af dette Forsøg er opført paa Fig. 4. Kurverne 1, 2, 3.

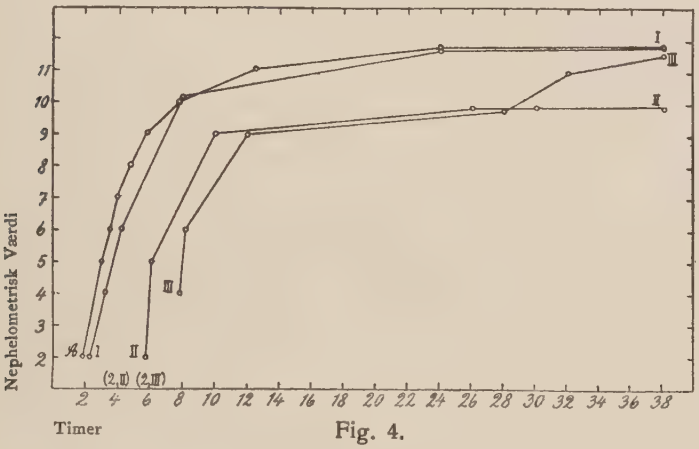

Fig. 4.

Nephelometriske Vækstkurver for Væksten i Kødvands-peptonbouillon.

I. Kulturen er omtrent vandret. II. og III. Kulturen er anbragt lodret. Efter 24 Timer er en Kultur (III.) anbragt vandret. Kurve A viser Gennemsnitskurven for B. c. P. i Kødvandpeptonbouillon. (For A og I. gælder de anførte Tider, for (II.) skal fradrages 2, for (III.) fradrages 4, idet de to Kurver er forskudt til h).

Man ser, at Kurverne følges ad i de første Timer, men medens den vandrette Kultur fortsætter sin hurtige Vækst ca. 8 Timer, begynder de andre snart at udvikle sig langsommere. Dog det, der er mest karakteristisk ved Vækstens Forløb, er, at den fuldstændig Standsning af Kulturens Udvikling for de lodrette Glas indtræder ved en meget mindre nephelometrisk Værdi. Selv ved stadig Henstand naar de ikke den Mængde Bakterier, der er udviklet i den vandrette Kultur. At dette ikke skyldes nogen større Beskadigelse af Bakterierne ser man af Kurve 3, der vi-

ser, at Væksten straks fortsætter, saasnart Kulturen lægges ned; der naas paa den Maade samme Mængde Bakterier, som der er udviklet i den Kultur, der hele Tiden har ligget vandret.

Heckscher finder en lignende Forskel i Væksten, naar han dyrker i en fladbundet Erlenmeyers Kolbe i Stedet for et opretstaaende Reagensglas. (Se Fig. 5. Kurve HC, HB).

For at sammenligne de af mig fundne Kurver med Resultaterne af *Heckschers* og *K. A. Jensens* Arbejder, har jeg af deres Tabeller søgt at fremstille nogle Kurver efter samme Princip som mine.

Af Heckschers Forsøg har jeg valgt de to, jeg lige har omtalt, hvor han i det ene har sørget for rigelig Ilttilførsel ved Anvendelse af en Erlenmeyers Kolbe. Herved bliver disse Forsøg (Tabl. XVIb og XVIc) lettere at sammenligne med mine. Jeg er gaaet ud fra den Antagelse, at vore Kulturer efter 48 Timer har naaet samme Bakteriemængde (ved rigelig Ilttilf.). Dette er maaske ikke helt rigtigt, men Fejlen kan ikke være meget stor, og ihvertfald spiller den ingen Rolle, da det mest er Kurvernes Form, ikke deres Placering i Koordinatsystemet, der har Interesse. Jeg har derfor sat hans nephelometriske Værdi 1,5 = min Værdi 12, heraf følger 0.75 = 11, 0.37 = 10 o. s. v., og saaledes har jeg overført hans Resultater i min nephelometriske Række og indtegnet dem paa Fig. 4. Kurve Hc, Hb.

Af K. A. Jensens Tabl. Nr. 2 og 8 har jeg ogsaa søgt at udforme en Kurve for Væksten, idet jeg har afsat Tiden som Absisse og indført de fundne Bakterietal paa de forskellige Tider i en logaritmisk Række. Jeg har valgt at sætte det Antal Bakterier, der findes efter 2½ Time = nephelometer 5 (30 Bakterier = 5, 15 = 4 o. s. v.), herved kommer Kurven til at ligge i et rimeligt, men ganske vilkaarligt Forhold til de andre. Naar man kun erindrer de vilkaarlige Faktorer, er det tilladeligt at sammenligne de forskellige Kurver, idet Kurvens Retning og Form i alle 3 Tilfælde udtrykker det samme.

Man ser af Fig. 5, at der er megen Overensstemmelse mellem de forskellige Kurver. De af K. A. Jensen nøjagtig talte Bakterier giver en Vækstkurve i samme Retning som Begyndelsen af min Gennemsnitskurve. Det vil deraf sikkert ikke være uberet-

tiget at slutte, at det Afsnit af min Kurve, som de første ca. 6 Timer følger en ret Linje, svarer til det saakaldte logaritmiske Stadie.

At de af Heckschers Forsøg beregnede Kurver stemmer godt overens med mine var at vente, da de er maalt efter samme Princip. Forskellen i Kurverne HC og HB svarer ganske til Kurverne 1 og 2 i Fig. 4. Det ses yderligere, at min Modifikation af Meto-

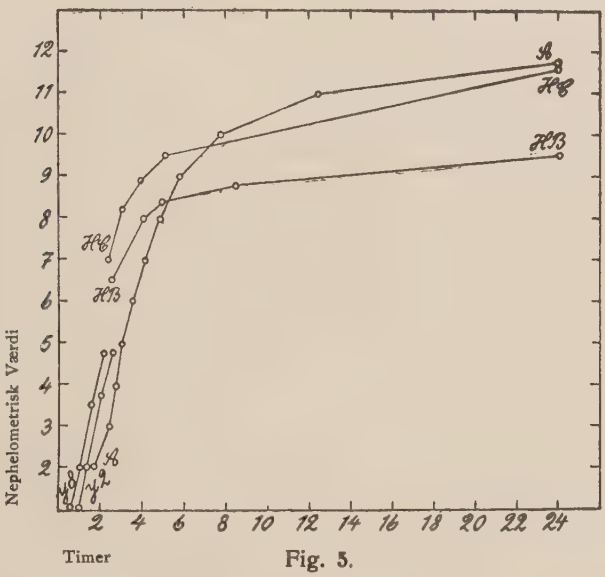

Fig. 5.

Kurve over Væksten af Colibakterier,

J 8 J 2 bestemt ved direkte Tælning af K. A. Jensen. (HC, HB). Nephelometriske Kurver fra Heckschers Forsøg HC, HB.
H C Colibakterier dyrket i Erlenmeyerskolbe.
H B „ „ Reagensglas lodret.
A Gennemsnitskurve fra mine Forsøg over Væksten i Bouillon.

den giver denne betydelig større Rækkevide, saaledes at ogsaa det »logaritmiske Stadie« fremtræder meget tydeligt. Naar dette Stadie kun træder saa lidt frem i Heckschers Forsøg skyldes det baade hans Metodes mindre Følsomhed og i mange Tilfælde den meget rigelige Tilsaaning.

Sammenfatter man Resultatet af disse Maalinger med den af mig modificerede nephelometriske Metode, ser man, at det er fuldt berettiget at betragte de derved fundne Værdier som et godt Billede af Bakteriernes Vækst.

De syntetiske Substrater.

De almindelige Forhold ved disse Substrater er allerede omtalt; til mine Forsøg har jeg især haft Brug for Substrater, der giver Bact. coli com. gode Vækstbetingelser. Som absolut uundværlige Stoffer for B. coli angiver *Braun*[81]) SO_4^{--} Mg^{++} Na^{+} K^{+} K samt Fosfat i en Blanding, der giver pH liggende mellem 5.5 og 9, som Kvælstofkilde er det simpleste $(NH_4)^{+}$ og som Kulstofkilde Acetat. Vil man have kraftige Vækst, maa Acetatet erstattes af Laktat, endnu hurigere og fyldigere Vækst opnaas ved yderligere at tilsætte Asparaginsyrens Natriumsalt. Det ses, at Cl slet ikke er nødvendigt, et Forhold, der dog ogsaa kun gælder Colibakterien, men som er af Betydning ved Undersøgelse af Sølvsalte.

Jeg har især brugt to mineralske Substrater, hvoraf det ene er saa enkelt sammensat, som det i det hele taget er muligt, naar man vil have kraftigt Vækst, medens det andet tilstræber at give særlig kraftig Vækst. Foruden disse har jeg til specielle Formaal anvendt forskellige andre. Ved de første Forsøg var Sammensætningen lidt anderledes, men dette har vist sig at være uden væsentlig Betydning og vil blive omtalt ved disse Forsøg.

Følgende Tabel viser Substraternes Sammensætning:

	Substrat betegnet S.	Substrat L.
$Na_2 SO_4$	0,015 m 4,84 g	0,015 m 4,84 g
$Mg SO_4$	0,001 m 0,12 g	0,001 m 0,12 g
Fosfat*)	0,015 m	0,015 m
Ammoniumlaktat 50 % ..	10 cm³	10 cm³
Asparaginsurt natrium ...		5 g
Frisk destilleret Vand.....	925 g	925 g

*) Fremstilles idet man til de 925 cm³ sætter 75 cm³ Fosfatblanding. Denne fremstilles af 0,2 m Opløsninger af $KH_2 PO_4$ og $K_2 HPO_4$, der blandes i saadan Forhold at Substratet naar den ønskede pH.

Substraterne steriliseres ved 100°.

Bortset fra den større kemiske Renhed er det altid nødvendigt at bruge friskt destilleret Vand, da dette ellers altid indeholder Bakterier og ofte i en saadan Mængde, at de tydelig ses ved Nephelometrien.

Ved Fremstilling af samme Substrat med samme pH vil den angivne Opskrift være den mest nøjagtige. Skal man af een Portion have flere Substrater med forskellige pH vil det ikke genere

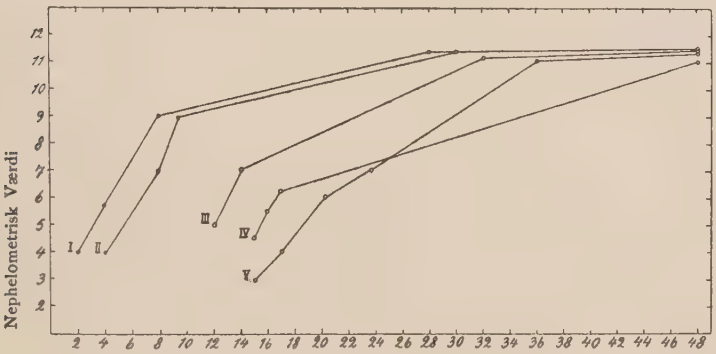

Fig. 6.

Nephelometriske Kurver over Væksten i Substrat S. pH 6.8—7.1.

Kurve	I.	20/11 28	Tilsaaning	med	1	Dr. 20	T. Kultur.
„	II.	20/11 28	„		1	„ 20	„
„	III.	20/11 28	„		1	Øse 20	„
„	IV.	28/6 28	„		1	„ 20	„
„	V.	21/11 28	„		1	„ 20	„

Tidsangivelserne gælder Kurve I., for II. fradrages 2, for III. fradrages 4 Timer o. s. v.

Forsøgene, om man opnaar dette ved Tilsætning af lidt H_2SO_4 eller NaOH.

Jeg vil først omtale Maalingerne af Væksten i disse Substrater, derefter vil jeg omtale nogle Forhold, der gør sig gældende her, medens de ingen Betydning har for Væksten i Bouillon.

Fig. VI viser Væksten i Substrat S, Kurverne er anbragt paa samme Maade som paa Fig. I for at gøre dem fri af hinanden.

Man ser, at der ikke er opnaaet den Ensartethed i Kurverne, saaledes som den findes paa Fig. II. Naar man ser nærmere paa

Kurverne, opdager man, at de første 3 har ganske samme Form, man bemærker endvidere, at disse Forsøg er foretaget omtrent ½ Aar efter de to andre. Den Forskel, som Kurverne viser, bekræfter, hvad jeg tydelig havde iagttaget under Forsøgene, at den anvendte Bakterie voksede bedre paa det enkelt sammensatte Substrat S, efterhaanden som den havde vænnet sig hertil

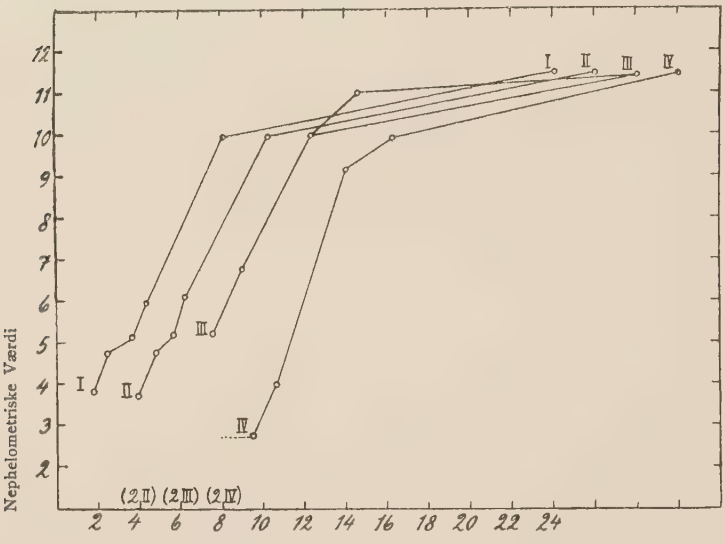

Fig. 7.

Nephelometriske Kurver over Væksten i Substrat L.

Kurve	I.	1/11 28	Tilsaaning	med	1	Øse	20 T. Kultur	pH 7.4.
„	II.	1/11 28	„		1	„	20 „ „	6.4.
„	III.	17/10 28	„		1	„	20 „ „	6.8.
„	IV.	17/10 28	„		1	Dr.	20 „ „	6.8.

Kurverne forskudt som i Fig. VI og II.

ved stadige Passager. Der kan derfor ikke blive Tale om nogen Gennemsnitskurve her.

Fig. VII viser Væksten paa Substrat L efter at Kurverne er anbragt paa tilsvarende Maade som Fig. II og VI.

Man ser her meget ensartede Kurver, men som det angives er alle disse Forsøg foretaget efter at Bakterien er blevet vant til de syntetiske Substrater. Det er dog min Mening, at dette

spiller meget mindre Rolle end ved Substrat S; man ser at Forandring af pH fra 6.4 til 7.4 ikke forandrer Væksten kendelig. Endvidere ses det, hvad der ogsaa kan læses af Fig. VI og II, at Kurvens Form er ens, hvad enten den tilsaas med 1 Øse eller 1 Draabe Bakterier. Under Væksten i Substrat L dannes der meget rigeligt Alkali; saaledes fandt jeg i et Forsøg ved Begyndelsen pH = 6.4, efter 7 Timer pH = 6.9, efter 24 Timer pH = 8.2; det

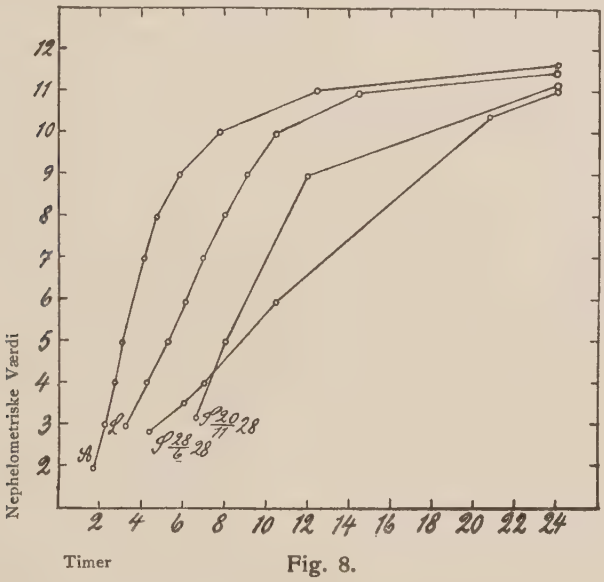

Fig. 8.

Nephelometriske Maalinger af Væksten

I Kødvandspeptonbouillon A, i Substrat S (S 28/6, S 20/10) og i Substrat L (L) (Tilsaaning 1 Øse).

(De anførte Tidsangivelser gælder alle Kurver).

er saaledes en meget betydelig Forandring, som kan influere paa Forsøgets Forløb.

Paa Fig. VIII har jeg samlet Gennemsnitskurven for Væksten i Bouillon (A), en Gennemsnitskurve af Kurverne i Fig. VI (L) og endelig Vækstkurverne for Substrat S henholdsvis $\frac{28}{6}$ og $\frac{20}{11}$.

Det ses, at Væksten foregaar hurtigst i Bouillon, men ogsaa i Substrat L foregaar den hurtigt; i Substrat S synes Vækst-hastigheden at være taget til, saaledes at den ved de sidste Forsøg S 20/11 har været ligestaa stor som i Substrat L, medens den ½ Aar i Forvejen var meget langsommere.

Det, der mest adskiller Kurverne fra hinanden, er den Tid, der hengaar, inden de har naaet den nephelometriske Værdi 9. Tiden er for Bouillon 6 Timer, for L 9 Timer og for S 20/11 12 Timer, S 28/6 18 Timer.

Tabel I.

Tid efter Tilsaaningen	Nephelometriske Værdier			
	Forsøg I	Forsøg II	Forsøg III	Forsøg IV
8 Timer	0	0	0	> 5
18 Timer	6	0	0	10
24 Timer	10	4	0	11
30 Timer	11	6	4	11

Maaling af Væksten i mineralsk Substrat S. efter Udsæd fra en Opslemning af Agarkultur.

I, II og III tilsaaet samtidig med 1 Øse Kulturopslemning. Nephelometrisk Værdi 10.

IV tilsaaet samtidig med 1 Øse af en 20 Timers Kultur i Substrat S. Nephelometrisk Værdi 10.

Det ses, at Væksten for alle Substraterne først forløber meget hurtigt, næsten følgende en ret Linje for derefter at gaa over i en meget langsommere Vækst som efter 24 Timer er meget ringe. Dette Forhold er meget udpræget i de Tilfælde, hvor Væksten foregaar hurtigt. Den flere Gange omtalte Latenstid kan Metoden ikke belyse klart, men en Forskydning af Kurven mod h., naar Vækshastigheden og Tilsaaningen er den samme, vil kunne tydes som en Forlængelse af Latenstiden.

Som omtalt viser der sig ved Kulturforsøg paa syntetiske Substrater nogle Forhold, som man maa tage Hensyn til, naar man vil benytte disse til biologiske Forsøg.

Det er allerede bemærket, at Latenstiden under nogle Forhold er meget variabel, hvad følgende Forsøg tydelig viser. Fra en Opslemning af en 20 Timers Agarkultur har jeg saaet i 3 Glas og bestemt Væksten. Resultatet er opført i Tab. I, hvor der til Sammenligning er afsat de nephelometriske Værdier af Kurve S 21/6 28 for at vise det almindelige Forløb af Væksten, naar Latenstiden er regelmæssig.

Man forstaar let, at saadan uregelmæssig Latenstid vil gøre Vækstbæmningsforsøgene meget usikre; det maa derfor kræves, at Latenstiden er meget regelmæssig. Dette opnaas, som allerede omtalt, ved at saa fra mineralsk Substrat til mineralsk Substrat.

Braun gør opmærksom paa en anden Uregelmæssighed, der kan forekomme ved saadanne Forsøg, idet han finder, at Væksten af og til udebliver. For at undgaa dette tilsaar han altid ret rigeligt (3 Øser). Dette spiller dog kun nogen Rolle ved Forsøg, der byder Bakterierne meget fattige Kaar, men hvor det dog er muligt at gennemføre fortsatte Passager. Det er ved Vækstbæmningsforsøg en absolut Nødvendighed, at man kan være sikker paa, at der kommer Vækst, saafremt der ingen Hæmning er; man maa derfor sikre sig, at dette er Tilfældet.

Jeg har derfor gentagne Gange undersøgt, hvor stor Bakteriefortynding der giver sikker Vækst og altid fundet Vækst ved en Tilsaaning af 1/1000 000 Øse (= ca. 100 Bakterier).

Der vil derfor ikke være Grund til at frygte Fejl i denne Retning ved mine Substrater.

Yderligere har jeg, ogsaa for de syntetiske Substrater, undersøgt Betydningen af forøget Ilttilførsel. For den anvendte Bakterie viste det sig, at de syntetiske Substrater forholdt sig fuldstændig som Bouillon (se Fig. IV), kun standsede Væksten noget tidligere her. Den anvendte Bakterie har saaledes ikke særlig stort Iltbehov, men Forsøgene er dog alle udførte med rigelig Lufttilførsel, dels for at faa den Forøgelse i Væksten, som herved opnaas, dels og især for at vide, at Metoden ogsaa er anvendelig saafremt dette er en Nødvendighed.

Naar man sammenfatter Resultaterne af disse Undersøgelser over Væksten paa de forskellige Næringssubstrater, kan man hævde, at Pepton-Bouillon giver den bedste Vækst, men at de »syntetiske« Substrater giver Bakterierne saa gode Livsvilkaar, at man roligt kan forsøge at anvende dem til Væksthæmningsforsøg og derved opnaa de Fordele i kemisk Henseende som disse Substrater frembyder.

UNDERSØGELSE AF VÆKSTHÆMNINGEN

Iagttagelsesmaterialet.

Naar man i en bakteriologisk Haandbog ser efter Tekniken til Væksthæmningsforsøg, anføres det altid, at denne er meget let og enkelt. Man tilsætter stigende Mængder af det hæmmende Stof til lige store Portioner Næringssubstrat og iagttager, hvilken Koncentration der hindrer Væksten af de tilsaaede Bakterier. Jeg har allerede omtalt, at man ogsaa kun opnaar meget faa oplysende Resultater herved, ligesom jeg har omtalt hvilke Fordringer, man maa stille til Forsøgsordningen for at opnaa mere dybtgaaende Resultater. Det viser sig ofte at være vanskeligt at opfylde dem alle, og man maa derfor ved Variation af Forsøgene stræbe efter at bortеliminere de Fejl, der opstaar ved Afvigelsen fra den ønskede Teknik.

Selve Dyrkningstekniken er ganske som den er omtalt ved Undersøgelserne af den uhæmmede Vækst, ligesom Væksten saa vidt muligt er fulgt paa samme Maade. Substraterne er ogsaa her tilsat under de omhyggeligste aseptiske Kauteler til de tørsteriliserede Reagensglas. Derefter er Opløsningen af det hæmmende Stof tilsat, saaledes at det samlede Rumfang altid er blevet det samme. I de fleste Tilfælde er der taget 5 cm^3 Substrat og 1 cm^3 Opløsning af det hæmmende Stof. Der er ikke derefter foretaget nogen Sterilisation af Kulturglassene, hvilket kun meget sjældent har været Aarsag til nogen Forurening af Kulturerne. Derimod fordrer Fremgangsmaaden, at man hyppigt maa sikre sig, at man arbejder med Renkulturer af den anvendte Bakterie.

Endvidere vil jeg fremhæve, at Tilsaaningen altid er foregaaet umiddelbart efter Tilsætningen af det hæmmende Stof,

saafremt man ikke har paavist, at Afvigelse herfra ikke spillede nogen Rolle.

De Fortyndninger her har været anvendt af de hæmmende Stoffer har i de forskellige Forsøg været varieret forskelligt fra Glas til Glas, men jeg har altid valgt Fortyndninger følgende en Kvotientrække. Herved opnaar man, at Fortyndingen stadig forandres i samme Forhold fra Glas til Glas. Den Kvotient, der betinger dette, har i Forforsøgene været ½, medens den i en Del af de nærmere Bestemmelser har været $^2/_3$, $^3/_4$ eller $^4/_5$.

Tilsaaningen til Kulturerne spiller stor Rolle for Forsøgene. De to Spørgsmaal, der fremkommer, er: 1) Hvilken Oprindelse skal Bakterierne have. 2) Hvor stor Mængde Bakterier skal man tilføre hvert Kulturglas.

Begge Spørgsmaal er vanskelige at afgøre. For at kunne tilføre ensartede Mængder, maa Bakterierne findes i en Opslemning. Af Hensyn til Hæmningsforsøgets Renhed er det bedst, at der slet ikke tilføres andet end Bakterier; dette kan opnaas ved at anvende en Opslemning i Saltvand af Bakterier fra en Agarkultur, da man herved næsten kan undgaa at tilføre noget af det tidligere Kulturmedie. Som omtalt i forrige Afsnit viser denne Fremgangsmaade sig dog uanvendelig, idet der i de mineralske Substrater kommer meget urglm. Vækst efter saadan Tilsaaning. Man maa derfor anvende en flydende Kultur til at saa ud fra, og da man helst skal bruge samme Udgangskultur til alle Forsøg, vil det være bedst at anvende en Kultur i det mest enkelte Substrat S. Denne giver den bedste Vækst i Substrat S og giver lige saa god Vækst i Bouillon og Substrat L som kan opnaas ad anden Vej. Foruden at Bakterien skal have en veldefineret Oprindelse skal Kulturen have en bestemt Alder, da mange Forsøg taler for, at Bakteriernes Resistens er forskellig i de forskellige Vækststadier. Jeg har derfor valgt en 20 Timers Kultur og opnaar herved, at Kulturen er kommet udover det Stadie, hvor man almindelig antager Bakterierne for at være særlig modtagelig for Giftvirkninger; paa den anden Side indeholder Kulturen endnu væsentlig levedygtige Kim.

Endnu et Spørgsmaal maa stilles her: er disse Bakterier normalt resistente eller er de svagere paa Grund af de noget vanske-

ligere Ernæringsforhold, hvorunder de har levet? Dette Spørgsmaal er, som jeg allerede har omtalt, undersøgt af *Cahn-Bronner*[70]) og vil i det følgende ogsaa blive belyst. Der vil atter her være Grund til at fremhæve, at det til Løsningen af mange af de her stillede Opgaver, ikke vil være af væsentlig Betydning om de anvendte Bakterier skulde være lidt mere følsomme end under andre Betingelser, selv om større Forandringer af Bakterierne helst bør undgaas.

Det andet Spørgsmaal kan ikke besvares under et, men Antallet af tilsaaede Bakterier vil blive omtalt ved de enkelte Forsøg. Som almindelig Mængde er anvendt 1 Øse af den omtalte Kultur. (Den anvendte Øse har en Diameter af 3 mm og er af meget tynd Platintraad).

Dyrkningen er foregaaet ved 37° C., og Kulturerne har jeg iagttaget saa hyppigt som muligt med nephelometriske Maalinger. Fuldstændige Vækstkurver over Hæmningsforsøgene har det kun i enkelte Tilfælde været mig muligt at opnaa, idet Væksten kommer paa meget uregelmæssige Tider og ofte løber ret hurtigt til Ende.

Kulturerne er iagttaget gennem længere Tid, mindst 1 Uge, og alle Kulturerne er derfor forsynet med Vaselin-Parafinprop.

Af hæmmende Stoffer har jeg valgt kun at undersøge ganske faa, men har til Gengæld søgt at belyse saa mange Sider af Hæmningen som muligt ved at variere Forsøgsbetingelserne.

Jeg vil derfor her gøre kort Rede for, af hvilken Grund jeg har valgt de anvendte Stoffer.

Det Stof, der først bliver omtalt, er Natriumbenzoat. Det er et veldefineret Stof, som, under de Forhold det udsættes for under Forsøgene, er meget resistent, det indgaar ikke Forbindelser med Substraternes Bestanddele; den eneste Proces, der staar i Forbindelse med Substratet, er Dissociationen, der er afhængig af Substratets Brintjonskoncentration. Det hører ikke til de meget giftige Stoffer, men virker dog i de fleste Tilfælde allerede i en saadan Koncentration, at dets »Neutralsaltsvirkning« ikke kan spille nogen væsentlig Rolle i Forsøgene. Yderligere vil Resultaterne for dette Stof ikke afvige fra de, man kan opnaa ved den hidtil anvendte Teknik.

De næste Stoffer, jeg har undersøgt, er Sølvsalte, der er Repræsentanter for de meget giftige Stoffer og især typiske Eksempler for de »tunge« Metaller. Det er Stoffer med stor Reaktionsdygtighed og som indgaar Forbindelser med overordentlig mange Stoffer.

De er derfor meget velegnede til at vise de Vanskeligheder, Væksthæmningsforsøgene giver. Paa den anden Side er nogle Egenskaber saa veldefinerede, at det, trods de komplicerede Forhold, der foreligger, dog er muligt at bestemme dem med stor Nøjagtighed. Der bliver derfor ikke blot Lejlighed til at se Vanskelighederne, men ogsaa Mulighed for at vise, hvorledes de kan overvindes. Til Undersøgelse af Sølvsaltene er der valgt to, som virker som helt forskellige Stoffer, saaledes at det er vanskeligt at se, at det er det samme Princip, der er virksomt i dem begge. Det ene er Sølvnitrat, det andet er komplex Natriumsølvthiosulfat.

Inden jeg gaar over til Beskrivelsen af de specielle Hæmningsforsøg, der søger at klarlægge de kemiske Forhold, vil jeg omtale de Iagttagelser og Maalinger af selve Kulturforsøget, som giver det biologiske Grundlag for den yderligere Analyse af Forsøgene. Det vil saaledes være en Beskrivelse af selve Forsøget svarende til de almindelige Hæmningsforsøg. Paa Grund af de mere indgaaende Maalinger giver disse Forsøg dog mere omfattende Materiale til Vurdering af Forsøgene. De her udvalgte Forsøg er taget fra de senere omtalte Forsøgsgrupper.

Jeg vil først omtale et Forsøg, hvor Væksten i Bouillon er hæmmet ved Tilsætning af Natriumbenzoat i stigende Mængder, den molære Koncentration angivet ved de enkelte Kurver af Væksten som findes paa Fig. IX.

Man ser, hvorledes Tilsætningen af Natriumbenzoat forandrer Væksten. Medens de ganske smaa Mængder væsentlig forsinker Vækstens Begyndelse noget (Kurve 2 og 3), kan man se, hvordan Væksten efterhaanden bliver langsommere, og den forholdsvise hurtige Vækst hører tidligt op (4,5), naar Benzoemængden forøges; endelig ser man ved Kurve 6, at den langsomme Vækst snart hører helt op, og den nephelometriske Værdi synker endda lidt paa Grund af Bakteriernes Henfald. Den endelige absolutte

Væksthæmning kan ikke indtegnes i Koordinatsystemet, den fandtes at være 0,130 m.

Et tilsvarende Forsøg paa et syntetisk Substrat giver et helt andet Billede. Af Hensyn til disse Forsøgs Langvarighed, har jeg valgt et Forsøg med Tilsaaning af rigelig Mængde Bakterier, saaledes at man kan følge Kulturen nephelometrisk hele Tiden. Jeg har derfor paa Fig. X foruden dette Forsøg ogsaa taget nogle Kurver fra et Forsøg i Bouillon med samme rigelige Saaning. Endvidere findes paa Fig. X nogle Kurver fra det nedenfor omtalte Forsøg.

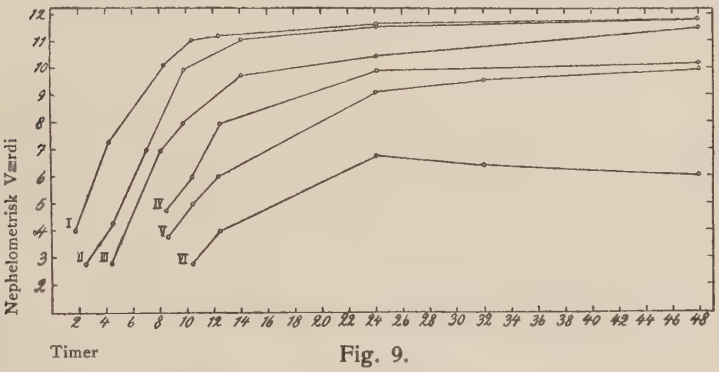

Fig. 9.

Nephelometriske Kurver over Bakterievæksten i Bouillon efter Tilsætning af Natriumbenzoat.

Kurve	I.	Væksten i	Bouillon	28/6 28		
„	II.	„	„	28/6 28	Natriumbenzoat	0.029 m.
„	III.	„	„	28/6 28	„	0.037 „
„	IV.	„	„	14/8 28	„	0.064 „
„	V.	„	„	14/8 28	„	0.080 „
„	VI.	„	„	14/8 28	„	0.100 „

Kurverne fra Forsøg med Substrat L er optegnet med brudt Streg, medens Kurverne fra Bouillonforsøget er punkteret. Man ser, at de punkterede Kurver fuldstændigt svarer til de paa Fig. VIII afbildede. Derimod har Kurverne fra Substrat L et fuldstændig andet Forløb. Hæmningen giver sig især til Kende ved en Forskydning af Kurven mod højre, hvilket vil sige, at det varer længere, inden Bakterierne kommer i Vækst. Selve Væksten

synes derimod at foregaa med sædvanlig Hastighed. Ved nærmere Eftersyn ser man dog, at Væksten forløber helt anderledes end den uhæmmede Vækst; det, der karakteriserer disse Kurver, er, at Væksten, efter at den er kommet i Gang, først er meget langsom for derefter ret pludselig at forøges meget, indtil den endelig standser paa den sædvanlige Maade. Forklaringen af dette Forhold vil jeg omtale senere; jeg har her blot villet vise, at den udvidede Teknik giver Lejlighed til Iagttagelser, man ellers ikke kunde faa.

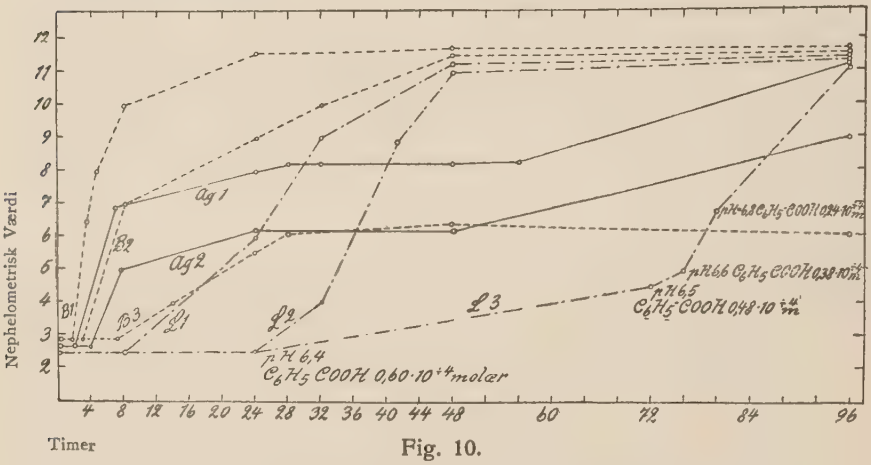

Fig. 10.

Nephelometriske Kurver for nogle Vækshæmningsforsøg.

Kurve	B_1	1/11 28	Væksten i	Bouillon		0.	m.	
„	B_2	1/11 28	„	„		0.03	„	Natriumbenzoat.
„	B_3	1/11 28	„	„		0.04	„	
„	L_1	1/11 28	„	Substrat L	pH 6.8	0.02	„	
„	L_2	1/11 28	„	„	„ 6.8	0.03	„	
„	Ag_1	22/11 28	„	„	$Na_2S_2O_3$ $5\text{-}10^{\div 3}$ m	$AgNO_3$	0.23 $10^{\div 3}$ m	
„	Ag_2	22/11 28	„	„	„ $5\text{-}10^{\div 3}$	„	0.36 $10^{\div 3}$ m	
„	L_3	16/11 28	„	„	pH 6,4	0.01 m.	Natriumbenzoat.	

Ligeledes vil jeg kort nævne det Forsøg, hvis Vækst ogsaa er indtegnet paa Fig. X, for derved at vise endnu en Form, den nephelometriske Kurve kan faa i Vækshæmningens Forsøg.

Hæmningen er her foretaget med Natriumsølvtiosulfat i Substrat L. Man ser, at Hæmningen i de første ca. 8 Timer ganske svarer til Forløbet i Forsøgene med Natriumbenzoat i Bouillon,

men nu bliver Hæmningen stærkere udtalt, og Væksten forøges næsten ikke mere de næste 48 Timer. Nu kommer Væksten atter i Gang og naar den almindelige Slutmængde.

Som allerede omtalt, vil de Forklaringer, jeg mener at kunne give paa disse Forhold, blive omtalt i de specielle Afsnit; jeg vil dog blot her nævne, at Konklusionen deraf er den, at man ved at optage Vækstkurver af Hæmningsforsøgene ofte vil opdage de sekundære Processer, der influerer paa det endelige Resultat, og saaledes kan man advares mod urigtig Tydning af Forsøget.

UNDERSØGELSER OVER NATRIUMBENZOATETS VÆKSTMÆMMENDE VIRKNING.

Tidligere Undersøgelser.

Baade Benzoesyre og Natriumbenzoat hører til de først undersøgte desinficerende Stoffer. Første Gang det omtales er af Dougal[17]) i 1872, der finder ret kraftig Virkning. Derefter omtales det af *Kolbe*[102]) og *Salkowsky*[103]) i begge Tilfælde i Sammenligning med Salicylsyre. *Bucholtz*'s[15]) Undersøgelser, med den af ham anvendte Metode, er de første Bestemmelser, som kan sammenlignes med de senere fundne Resultater. Senere er det undersøgt af mange Forskere, ogsaa af *Robert Koch*[2]), men Resultaterne er lidet overensstemmende, hvad der ikke kan undre, efter at man ved Vermasts Undersøgelser er kommet til Klarhed over Stoffets Virkning. Alle disse Undersøgelser har derfor kun haft ringe Betydning for Desinfektionslæren, hvorimod Stoffernes Anvendelse som Konserveringsmidler støtter sig paa disse Forsøg. Heller ikke om Brugbarheden hertil er der nogen Enighed; i en Oversigt støttet paa egne Forsøg giver *Lehmann*[104]) en Fremstilling af dette Spørgsmaal og viser, at det i meget sure Frugtsafter giver en kraftig antiseptisk Virkning i Koncentrationer, der maa anses for uskadelig, hvorimod der ved Kødvarer ikke er nogen sikker Virkning før i store Koncentrationer.

Inden jeg omtaler de senere Aars Undersøgelser over Benzoesyren og Natriumbenzoatets desinficerende Virkning, vil jeg omtale nogle af disse Stoffers Egenskaber.

Benzoesyren findes gerne som et fint krystalinsk, lugtfrit Pulver, det sublimere uspaltet ved Opvarmning, og er i det hele, ogsaa i Opløsninger, et meget resistent Stof. Det er meget tungt opløseligt i Vand. I Opløsningen dissocieres det, men ikke fuldstændigt, idet følgende Ligevægt opstaar:

$$\frac{H^+ \cdot C_6 H_5 COO^-}{C_6H_5 COO H} = 6.5\ 10^{-5}$$

Det ses af denne Ligning, at der altid maa findes en vis Mængde udissocieret Benzoesyre, hvis der i en Opløsning findes Benzoatjoner. Som jeg senere vil forklare nærmere ved Undersøgelser over Sølvsalte, er de Størrelser, ovenstaaende Ligning angiver, ikke de omtalte Joners Koncentrationer, men deres Aktivitet. Dette er en Størrelse, der ikke blot er afhængig af selve Stoffets Koncentration, men ogsaa af den samlede Jonnormalitet i Opløsningen. Ligesom ved Forsøgene med Sølvsalte vil der dog heller ikke her være Grund til at tage noget Hensyn hertil ved Beregningerne, idet mine Næringssubstraters Jonnormalitet aldrig overskrider 0.1 og næsten er ens i alle Forsøg.

Medens altsaa Benzoesyren er meget tungt opløseligt, er Natriumbenzoat meget let opløseligt. En Opløsning af Natriumbenzoat har en pH af ca. 7.1. Det dissocieres fuldstændigt, men en Del af de fri Benzoatjoner forener sig med Brintjoner til udissocieret Benzoesyre, indtil Benzoesyrens Dissociationsligning er opfyldt. Det følger heraf, at Tilsætning af Natriumbenzoat til et Substrat vil kunne ændre dettes pH, et Forhold, man altid maa tage i Betragtning.

Som omtalt er Benzoesyre meget tungt opløseligt i Vand, derimod er den let opløselig i Benzol, Chloroform og andre »lipoidopløsende« Vædsker. Det lader sig derfor extrahere af en vandig Opløsning. Dette er meget nøje undersøgt af *W. S. Hendrixson*[69]), der viser, at Forholdet mellem den Koncentration af Benzoesyre, der forbliver i den vandige Opløsning og Koncentrationen i den extraherende Vædske, er en Konstant.

De tidligere Undersøgelser over Benzoesyrens Virkning paa Bakterierne er allerede nævnt, ligesom det er fremhævet, at først de af *Vermast*[63]) foretagne Undersøgelser giver nogen Klarhed

over Forholdene; dette Arbejde skal jeg derfor nærmere omtale. Allerede tidligere vidste man, at Benzoesyren virkede bedst ved sur Reaktion, men man havde ikke forklaret dette nærmere. Vermast hævdede, at man maa antage, at det er den udissocierede Benzoesyre, der er den aktive Faktor, idet det ved Forandringen til mere sur Reaktion kun er dennes Koncentration, der forøges, medens Benzoatjonens Koncentration netop bliver mindre. Da den udissocierede Benzoesyre adskiller sig fra Benzoater ved at være »liopoidopløselig«, hævder Vermast yderligere, at Forholdet let forklares ved Hjælp af den Meyer-Overtons Narkoseteori. Saafremt man nemlig antager, at Bakterierne er omgivet af en Lipoid-Membran vil Benzoatjonerne ikke kunde trænge ind i Bakterien; dette vil derimod være Tilfældet med den udissocierede Benzoesyre, og kun denne vil derfor kunne paavirke Bakterierne.

Til Bevis for denne Forklaring undersøgte *Vermast*[63]) Desinfektionsevnen af forskellige Blandinger af Benzoesyre og Fosfatblandinger. Det er heri muligt at beregne Koncentrationen af udissocieret Benzoesyre i hvert enkelt Tilfælde.

Han fandt, at den Mængde Benzoesyre, der skulde tilsættes de forskellige Fosfatblandinger, var meget forskellig, medens den beregnede Mængde udissocierede Benzoesyre altid var ens. Han varierede ikke blot Forholdet mellem primært og sekundært Fosfat, ogsaa den samlede Fosfatmængde blev varieret. Han finder derfor ogsaa, at der i mange Tilfælde maa sættes forskellige Mængder Benzoesyre til, selv om pH er den samme. Han udtrykker dette ved at fremhæve, at den desinficerende Virkning kun er afhængig af den udissocierede Benzoesyres Koncentration, men uafhængig af pH. Dette er ganske rigtigt, men giver ikke noget helt klart Billede af Forholdet. Man udtrykker det mere oplysende ved at sige, at den desinficerende Virkning kun er afhængig af Koncentrationen af den udissocierede Benzoesyre, men at denne igen afhænger af den Brintjonkoncentration, der findes i Blandingen efter Tilsætningen af Benzoesyre. At Mængden af Benzoesyre, der maa tilsættes, er uafhængig af den oprindelige pH, er i biologisk Henseende et underordnet Spørgsmaal, som kun har rent kemisk Interesse.

Det maa fremhæves, at han yderligere viser, at denne Forklaring ikke gælder, naar Substratet bliver tydeligt alkalisk, idet den desinficerende Virkning nu ikke er afhængig af Koncentrationen af udissocieret Benzoesyre, men maaske af Benzoatjonskoncentrationen; dette lykkes det ham ikke nærmere at udrede.

Hans Undersøgelser giver ikke noget egentlig Billede af Benzoesyrens Desinfektionsevne, idet han anvender meget langvarige Forsøg med Suspensionsmetoden. Hans Forsøg indtager derfor en Mellemting mellem Desinfektionsforsøg og Væksthæmningsforsøg. Dette spiller dog ingen Rolle for Rigtigheden af hans Forklaringer. Man kan hævde, at Betingelserne for Benzoesyrens og Natriumbenzoatets desinficerende Virkning ved hans Undersøgelser er fuldstændigt klarlagt, saafremt Brintjonkoncentrationen er større end pH 7.2. Om hans Anvendelse af Meyer-Overtans Forklaring er berettiget, vil Fremtiden vise.

Efter Vermast har *Kuroda*[64]) og *Waterman*[65]) undersøgt Betydningen af pH for Benzoesyrens Virkning i Sammenhæng med Undersøgelser over andre Stoffer som Salicylsyre, Phenol, Kresol, Tymol, men uden at finde noget yderligere Punkt til Forklaring af disse Stoffers Virkning.

Egne Forsøg over Natriumbenzoatets Væksthæmning.

Jeg har allerede vist, hvorledes Bakteriernes Vækst paavirkes ved Tilsætning af Natriumbenzoat til Næringssubstratet. I dette Afsnit har jeg ud fra saadanne Forsøg søgt at løse følgende 3 Opgaver:

1) Hvilken er den aktive Faktor ved Hæmningen?

2) Hvilken Betydning har Bakteriernes Ernæring for dette Stofs Hæmning?

3) Hvilken Betydning har Antallet af Bakterier, hvormed man tilsaar?

Det er meget vigtigt at besvare det første Spørgsmaal straks, idet de andre først tydelig kan udredes, naar man ved, hvilken Faktor det er, der udfolder den hæmmende Virkning. Det er dog nødvendigt først at danne sig et Skøn over de 2 andre Spørgs-

maal; ved orienterende Forsøg blev jeg hurtig klar over, at hverken Substratets Art eller Antallet af tilsaaede Bakterier spillede nogen større Rolle.

Som det allerede er omtalt, har *Vermast*[63]) vist, at det ved Desinfektion er den udissocierede Benzoesyre, der er den aktive Faktor; det var derfor naturligt først at undersøge, om dette ogsaa er Tilfældet ved Væksthæmningen.

Ved Opløsningen af Natriumbenzoat i Næringssubstratet vil det, som omtalt, dissocieres fuldstændigt i Na^+ og $C_6H_5\ COO^-$; Benzoatjonen vil straks reagere med de fri Brintjoner og danne udissocieret Benzoesyre, indtil der er opstaaet Ligevægt efter Ligningen $\frac{H^+ \cdot C_6\ H_5\ COO^-}{C_6\ H_5\ COOH} = 6.5 \cdot 10^{-5}$. Der vil derfor dannes en Del udissocieret Benzoesyre, ligesom pH bliver noget forandret. Af de Forandringer Substratet er undergaaet ved Tilsætningen af Natriumbenzoat, vil der dog kun være 2 Faktorer, som kan tænkes at foraarsage Hæmning af Bakteriernes Vækst: dette er Tilstedeværelsen dels af Benzoatjon, dels af udissocieret Benzoesyre.

Naar man kender Mængden af tilsat Natriumbenzoat og Substratets pH efter Tilsætningen, kan man efter den anførte Ligning beregne Mængden af de to Faktorer.

Det vil derfor være muligt at bestemme den aktive Faktor, idet denne i alle Forsøg, hvor samme Hæmning udøves, vil bevare samme Koncentration, medens den anden Faktor vil variere efter Forsøgsbetingelserne. Man behøver blot at bestemme den Mængde Natriumbenzoat, der er nødvendig for at fremkalde Hæmning i forskellige Forsøg, hvor alle Betingelser er ens, med Undtagelse af Brintjonskoncentrationen. Beregner man deraf Koncentrationerne for hvert Forsøg af de to Faktorer, vil man finde den aktive Faktor omtrent ens i dem alle.

Jeg har derfor foretaget saadanne Forsøg, idet jeg til Substrat har valgt L og i dette varieret pH fra 5.9 til 7.8. Jeg har ikke villet gaa længere til nogen af Siderne med Hensyn til Brintjonskoncentrationen for ikke at komplicere med Syre- eller Alkali-Virkning.

Tabel II.

Substrat L pH	Vækst efter	Molaritet af Natriumbenzoat i de enkelte Kulturer												
		0.125	0.093	0.070	0.052	0.039	0.031	0.017	0.013	0.010	0.007	0.005	0.004	0.003
5,9	48 T.									÷	÷	÷	÷	+
	1 Uge									÷	÷	÷ pH6.0*)	+	+
6,4	48 T.					÷	÷	÷	÷	(+)				
	1 Uge					÷	÷	÷ pH6.4*)	+	+				
6,9	48 T.			÷	÷	+	+	+						
	1 Uge			÷	÷ pH6.9*)	+	+	+						
7,4	48 T.	÷	÷	÷	(+)	+								
	1 Uge	÷	÷ pH7.3*)	(+)	+	+								
		0.138	0.092	0.061										
7,8	48 T.	÷	(+)	+										
	1 Uge	÷ pH7.7*)	+	+										

Bestemmelse af den mindste Koncentration Natriumbenzoat, der hæmmer Bakterievæksten i samme Substrat, men med forskellig pH.

÷ = ingen Vækst af Bakterierne. + = tydelig Forøgelse af Bakteriemængder ved Maaling i Nephelometret. Kolonnen til V. angiver Substratet pH før Tilsætningen af Natriumbenzoat.

*) Angiver pH efter Tilsætningen af Natriumbenzoat i den bestemte Fortynding.

Substrat L er fremstillet med pH 5.9, 6.4, 6.9, 7.4 og senere ogsaa med pH 7.8. Der er anvendt 5 cm^3 Næringssubstrat til hver Kultur, hertil er sat 1 cm^3 Opløsning af Natriumbenzoat, der først er steriliseret 5 Min. ved 100°. Koncentrationen af Natriumbenzoat aftager med ¾ fra Glas til Glas. Dog er der først foretaget Forforsøg, hvor Koncentrationen er faldet $^2/_3$ fra Kultur til Kultur. Til Tilsaaning er brugt en 20 Timers Kultur af Bc P i Substrat S, der inden dens Anvendelse er centrifugeret kraftigt i 1 Min. for at fjerne større Partikler, saaledes at den Mængde Bakterier, der sættes til hvert Glas, bliver lige stor. Efter Centrifugeringen var Kulturens nephelometriske Værdi 10, heraf sattes til hver Kultur 0.05 cm^3. Denne meget rigelige Tilsaaning anvendte jeg for at kunne følge Forsøgene nephelometrisk lige fra Begyndelsen; hver Kultur havde derfor lige efter Tilsaaningen nephelometrisk Værdi < 3. Som jeg senere vil vise, er der ikke fremkommet nogen Forandring i Resultatet ved at anvende saa store Udsæd.

Efter Vækstforsøget er pH bestemt i et Glas med samme Substrat, tilsat den Mængde Natriumbenzoat, som netop giver Vækstthæmning. Resultaterne er opført paa Tabel II og III. Paa Tabel II findes de umiddelbare Resultater af Kulturforsøgene, dels efter 48 Timer, dels efter 1 Uge. Man ser, at Resultaterne efter 48 Timer ikke er de helt endelige, men dog kun afviger lidt fra Slutresultatet. Af Forsøgene fremgaar det med stor Tydelighed, at Giftigheden tiltager stærkt, naar Substratet bliver mere surt; saaledes skal der for at fremkalde Vækstthæmning ved pH = 6,0 kun sættes ca. 1/10 af den Mængde, der er nødvendig ved pH = 6.9.

Af Tab. III ser man, at den tilsatte Mængde forandres meget fra Forsøg til Forsøg, medens den beregnede Mængde udissocierede Benzoesyre er ens i alle Forsøg. En Undtagelse danner kun det Forsøg, hvor pH var 7.7, da Mængden af udissocieret Benzoesyre her er meget mindre. Dette kan dog ikke undre, da det er i ganske Overensstemmelse med de Resultater *Vermast*[63]) finder ved Desinfektionsforsøg. Jeg har ikke søgt at trænge nærmere ind i dette Spørgsmaal, idet jeg mener, at Forholdene her

Tabel III.

Substrat L pH	pH efter Tilsætning af Benzoat	Mindste molære K der hæmmer af Natrium-benzoat	Koncntration af udissocieret Benzoesyre
5.9	6.0	$5{,}5 \cdot 10^{\div 3}$	$0.83 \cdot 10^{\div 4}$
6.4	6.4	$17 \cdot 10^{\div 3}$	$1.02 \cdot 10^{\div 4}$
6.9	6.9	$52 \cdot 10^{\div 3}$	$0.99 \cdot 10^{\div 4}$
7.4	7.3	$93 \cdot 10^{\div 3}$	$0.70 \cdot 10^{\div 4}$
7.8	7.7	$138 \cdot 10^{\div 3}$	$0.41 \cdot 10^{\div 4}$

Hæmningsresultaterne fra Tabl. II med Beregning af Mængden af udissocieret Benzoesyre.

bliver saa komplicerede, at vi med vor nuværende Teknik ikke kan komme videre.

Forsøgene beviser saaledes meget tydeligt, at ogsaa for Væksthæmningsforsøgene *er det den udissocierede Benzoesyre der er den aktive Faktor,* og at den i Substrat maa være tilstede i en Koncentration af ca. $10^{\div 4}$ molær for at fremkalde Hæmning. Ved at undersøge Natriumbenzoat ser man, at man ikke bestemmer dette Stofs Virkning, men Benzoesyrens.

Da man nu kender den aktive Faktor og kan beregne dens Koncentration, er der et Grundlag for at sammenligne de Værdier, man finder ved Hæmning paa andre Substrater. Nogen sikker Sammenligning med tidligere udførte Forsøg er dog ikke muligt, da pH ikke er nøje bestemt og især ikke efter Tilsætningen af Benzoatet; jeg vil dog anføre, at *Eisenberg*[54]) ved sine Forsøg fandt Hæmning af Bact-coli ved en 0.1 molær Koncentration. Han angiver dog ikke, hvilken Brintjonskoncentration hans Substrater har haft; men da den sandsynligst har været nær Neutralpunktet, ses det, at de Værdier, der er fundet af ham, ligger ganske nær mine.

Jeg har undersøgt Hæmningen, dels i Bouillon, dels i Substrat L. Især med Bouillon har jeg udført mange Forsøg og altid fundet samstemmende Resultater. Det Forsøg, hvis Vækstkurver findes paa Fig. IX, er foretaget i en Bouillon med pH = 7.0 og viste, som omtalt, fuldstændig Hæmning ved en 0.13 molær

Koncentration af Natriumbenzoat. I et Forsøg med pH = 6.7, udført i en Serie med de i Tabel II anførte Forsøg, fandt jeg den nødvendige Koncentration 0.07 m, hvilket ogsaa stemmer nøje overens med Forandringer af pH. Det ses heraf, at den nødvendige Koncentration af udissocieret Benzoesyre i Bouillon er $2 \cdot 10^{-4}$; altsaa behøves der her dobbelt saa meget, som der fordredes til at fremkalde Væksthæmning i Substrat L.

I Substrat S er fundet samme Resultat som for L ved pH 7.0 og 6.7, men dog saaledes, at Resultatet var noget mindre sikkert, idet Væksten i det sidste Glas i nogle Forsøg udeblev.

Sammenfatter vi disse Resultater for den absolutte Hæmning, ser man, at der kun er en ringe Forskel i Giftvirkningen i de forskellige Substrater, men at Bakterierne dog tydelig kan yde større Modstand mod den hæmmende Indflydelse, naar de vokser i Bouillon.

Som allerede vist forholder den delvise Hæmning sig anderledes, idet her findes en udpræget Forskel i Forsøgenes Forløb, saaledes som Kurverne paa Fig. X viser.

Jeg havde haabet gennem Optagelsen af de nephelometriske Kurver at faa et godt Maal for den mindste Koncentration af det hæmmende Stof, som det i det hele taget influerer paa Væksten. Man ser af Fig. IX, at det første Udtryk for Hæmningen er en Forskydning af hele Kurven til h (Kurve II), medens langsommere Vækst først viser sig ved noget større Koncentration af det hæmmende Stof. Nu er det allerede omtalt, at der selv ved den uhæmmede Vækst kan findes en mindre Forskydning af Kurven parallelt med Absisseaksen, uden at man kan tillægge dette nogen Betydning. Det bliver derfor ikke muligt paa denne Maade at faa en veldefineret Bestemmelse af den omtalte Størrelse. Den Forskydning af Kurverne til h., der findes i Hæmningsforsøgene, før der endnu findes nogen tydelig Aftagen af Væksthastigheden, kan skyldes to Forhold, dels at Latenstiden er forlænget, dels at det kun er en Del af Bakterierne, der kommer i Vækst. Det er ikke lykkedes mig at udrede dette nærmere; men her er en af de Opgaver, som den direkte mikroskopiske Maaling vilde kunne bidrage til at løse.

Jeg har allerede omtalt den Forskel, der er mellem Kurverne for Væksten i Bouillon og i Substrat L; den er karakteriseret ved en i Substrat L pludselig optrædende Tiltagen af Vækstha-stigheden, efter at denne først har været meget langsom. Det sidste Forhold ser man mere udpræget ved Iagttagelsen af selve Forsøget end de nephelometriske Maalinger kan gengive. Ved Sammenligning med de regelmæssige Kurver for Paavirkningen af Væksten i Bouillon er dette Forhold paafaldende, og man tvinges til at undersøge, om ikke sekundære Processer er Aarsagen.

Det vil derfor være rimeligt at overveje, om det Substrat, hvori Bakterierne pludselig begynder at vokse hurtigt, er af samme Sammensætning som ved Forsøgets Begyndelse, og især om Koncentrationen af udissocieret Benzoesyre er den samme.

Det er omtalt, at der under Væksten i Substrat L dannes meget rigeligt Alkali, og at man allerede tidligt kan paavise Forandring af Reaktionen, en Forandring, der først meget sent indtræder i Bouillon. Det samme viser sig at være Tilfældet under Vækstthæmningsforsøgene. Jeg har søgt at vise dette ved at følge Reaktionens Forandring paa de forskellige Tidspunkter af Væksten. Det lykkedes dog kun en enkelt Gang at foretage flere Maalinger i det Tidsrum, hvori den hurtige Vækst begynder. Dette Forsøg foretog jeg ved paa en Gang at tilsaa 6 Kulturer i Substrat L (pH 6.4), alle tilsat samme Mængde Natriumbenzoat. Væksten i Kulturerne maaltes nephelometrisk, og med Mellemrum udtog jeg et Glas og bestemte heri pH kolorimetrisk. Vækstens Forløb er afbilled paa Fig. X, Kurve L_3, ligesom jeg der har noteret de fundne Værdier af pH og den deraf beregnede Koncentration af udissocieret Benzoesyre. Denne Forandring af Substratets Sammensætning forklarer fuldstændig, hvorfor den hæmmende Virkning ophører efter en vis Tid, idet den udissocierede Benzoesyrekoncentration falder fra $0.60 \cdot 10^{-4}$ til $0.24 \cdot 10^{-4}$.

Da saaledes den ret stærke Alkalidannelse influerer paa Hæmningsforsøget, var det af Interesse ogsaa at se, hvorledes Hæmningen vilde foregaa i et Substrat, hvori der fandtes en udpræget Syredannelse.

Til dette Forsøg fremstillede jeg et Substrat, der som eneste Kulstofkilde indeholdt Laktose.

Dets Sammensætning var:

$(NH_4)_2$ SO_4	0.015 m	1.98 g
Mg SO_4	0.001 m	0.06 g
Fosfatblanding.....	0.015 m	
Na Cl	0.015 m	0.87 g
Laktose		2.5 g
Aqva destill.		500 g

pH 6.8.

Den egentlige Aarsag til Fremstillingen af dette Næringssubstrat var mit Ønske om at fremstille et Substrat, hvori Bakteriernes Vækst hindredes fuldstændigt, saafremt Evnen til at nedbryde Laktose var hæmmet. Paa denne Maade vilde det være muligt at vise, om den nødvendige Koncentration til at hæmme denne enkelte Funktion var mindre end den, der var nødvendigt for at hæmme hele Væksten. Resultatet viste baade for Natriumbenzoat og for Sølvnatriumtiosulfat, at dette ikke var Tilfældet, men Forsøget kunde derved benyttes til at belyse det omtalte Spørgsmaal.

Den uhæmmede Vækst i dette Substrat afviger en Del fra Væksten i de andre Substrater, idet den stærke Syredannelse hurtigt gør sig gældende. Allerede efter faa Timers Vækst ses Bakterierne agglutinerede med en særlig Tilbøjelighed til at sætte sig fast paa Glasvæggene, nogen egentlig nephelometrisk Maaling er derfor ikke mulig. I de første 6—8 Timer er Væksten ret rigelig, men derefter forøges Bakteriemængden ikke synligt. Ved Vækstthæmningsforsøgene varer det meget længe, inden der kommer synlig Vækst, og den standser hurtigt; dog naar Reaktionen i alle Kulturerne at blive tydelig sur. Den nødvendige Mængde Natriumbenzoat til at fremkalde fuldstændig Hæmning viser sig at være fuldstændig den samme som i Substrat L pH 6.8. Tilsaaningen er 1 Øse. Hvorledes Resultatet vilde blive ved en rigeligere Udsæd har jeg ikke undersøgt, da jeg mener, at Forholdene her paa Grund af Agglutinationen vil blive for komplicerede.

Klarlæggelsen af det tredie Spørgsmaal har været vanskeligt. Det har dog været let at paavise, at Mængden af tilsaaede Bakterier spiller en meget ringe Rolle for det endelige Resultat af Hæmningsforsøget. Det er omtalt, at disse Undersøgelser omfatter 3 Spørgsmaal.

1 Betydningen af Svingninger omkring den »passende« Udsædsmængde.

2) Betydningen af meget rigelig Udsæd og endelig

3) Betydningen af meget ringe Udsæd.

Jeg har søgt at bestemme Væksthæmningen under iøvrigt ens Betingelser, medens jeg har varieret Mængden af tilsaaede Bakterier fra 0.05 cm^3 af en 20 Timers Kultur til en 1/000 000 Øse. I et enkelt Forsøg har jeg ved at centrifugere en saadan Kultur og derefter opslemmet Bakterierne i en mindre Mængde af selve Substratet faaet endnu flere Bakterier i 0.05 cm^3; naar jeg anvendte denne Fremgangsmaade, var det for at undgaa at sætte mere end 0.05 cm^3 af det udnyttede Medie til nye Kulturer.

Resultaterne af disse Forsøg er opført i Tab. IV. Forsøgene er ordnede i Grupper efter de Kulturer, der er anvendt til Udsaaning, idet man kunde vente, at de forholdt sig forskelligt.

Det, der præger Resultaterne, er den overordentlig ringe Forskel i Hæmningen, selv naar Bakteriemængden forøges 1 Mil. Gange. Ved nærmere Eftersyn ser man, at den Forskel, der i det hele taget forekommer, først viser sig, naar der tilsættes saa mange Bakterier, at de bliver synlige i Nephelometret; endvidere ses det, at en yderligere Forøgelse ikke vil forandre Resultatet. Jeg viser herved, at det ikke er Forholdet mellem Bakteriemængden og det hæmmende Stofs Mængde, der er af Betydning for dette Forhold.

Man kan ikke udelukke, at Aarsagen er den, at der blandt saa mange Kim findes enkelte, der er særlig resistente, men en anden Forklaring er ogsaa mulig. Jeg har allerede omtalt, at Dannelsen af alkaliske Forbindelser spiller en vis Rolle ved mange Væksthæmningsforsøg. Ved Tilsaaning med mange Bakterier gør dette sig særlig gældende. Har man to fuldstændig ens Forsøg, kun med forskellig Udsædsmængde, vil der findes en

Tabel IV.

Udgangskultur dennes Nephelometriske Værdi		Udsaaningsmængde	De tilsaaede Kulturers Nephelometriske Værdi	Næringssubstrat	Molaritet af Natriumbenzoat			
					0.200	0.120	0.080	0.053
Bouillon 24 Timer	< 12	1 Øse	< 1	Bouillon	÷	(+)	+	+
		1/10000 -	< 1		÷	÷	+	+
		1/100000 -	< 1		÷	÷	+	+
		1/1000000 -	< 1		÷	÷	forurenet	+
					0.050	0.038	0.028	0.019
Substrat S	11	1 Draabe	3	Substrat L	÷	÷	+	+
		1/10 -	< 1		÷	÷	÷	+
		1/1000 -	< 1		÷	÷	÷	+
					0.098	0.065	0.043	0.028
20 Timer, (centrifug.)	(< 14)	1 Draabe	< 5	Substrat L	÷	÷	+	+
		1/5 -	< 3		÷	÷	+	+
					0.050	0.038	0.028	0.019
Substrat L	< 12	1 Draabe	3	Substrat L	÷	÷	+	+
		1/10000 -	< 1		÷	÷	÷	+
		1/1000000 -	< 1		÷	÷	÷	+

Undersøgelser over Betydningen af Mængden af tilsaaede Bakterier for den hæmmende Virkning.

Dels er Udgangskulturen varieret, dels det anvendte Substrat.

Koncentration af Natriumbenzoat, hvor Væksten vil være saa svag, at der ikke dannes flere Bakterier end der dør. I det Glas, hvor der er mange Bakterier, vil der nu blive dannet en Del Alkali, hvorved Mængden af udissocieret Benzoesyre vil formindskes, og Hæmninger aftager. I den anden Kultur vil den Mængde Alkali, der dannes, ikke være tilstrækkelig til at forandre Substratets pH, og Væksten vil derfor ikke tage til og bliver *saaledes ikke* synlig. At en saadan Forklaring er mulig tyder ogsaa den meget lille Forskel i Forsøgene med Bouillon paa.

Ved Anvendelsen af den meget store Variation af Mængden af tilsaaede Bakterier, kunde man maaske vente at faa noget Kendskab til de enkelte Bakteriers Resistens og saaledes belyse den af Reichenbach opstillede Teori til Forstaaelse af Desinfek-

tionsforsøgenes Forløb. Som jeg allerede har omtalt, mener han, at en Kultur bestaar af Bakterier af meget forskellig Resistens, men saaledes, at de fleste har ret ringe Resistens, nogle har lidt større, men kun ganske faa en særlig stor Resistens.

Man ser let, at man ved Hæmningsforsøg kunde faa et Indblik i dette Forhold, saasnart man vilde saa med saa faa Bakterier, at ingen af de mest resistente Bakterier kom med. I dette Tilfælde maatte man finde den nødvendige Koncentration af det hæmmende Stof formindsket. Forsøgene viste, som det fremgaar af Tabellen, ikke noget Tegn paa en saadan forskellig Resistens; de udelukker dog ikke, at den findes, men enten maa de meget resistente Bakterier være meget talrige (mindst 1 %, idet 1 Øse 1/000.000 indeholder ca. 100 Bac.) eller ogsaa meget sjældne (færre end ca. 1 af 100 Mill., idet 0.05 cm^3 indeholder saa mange Bakterier).

Sammenfattes Resultaterne af disse Forsøg, kan man hævde, at Antallet af tilsaaede Bakterier ikke spiller nogen Rolle ved Undersøgelsen af Natriumbenzoatets hæmmende Virkning, men at man ved meget rigelig Udsæd kan iagttage meget svag Vækst, som ikke ses ved mindre Udsæd.

UNDERSØGELSER OVER SØLVSALTENES VÆKSTHÆMNING.

Naar jeg har valgt at undersøge Sølvsalte, er det især paa Grund af den forholdsvis lette og nøjagtige Metode, man har til at bestemme Koncentrationen af Sølvjonen, hvis Funktion man derved kan undersøge. Endvidere drejer det sig i Modsætning til Natriumbenzoat om overordentlig giftige Stoffer, som i uhyre ringe Koncentration kan hæmme Bakteriernes Vækst. Endelig er det, som nævnt, en typisk Repræsentant for de tunge Metaller, som danner en særlig Gruppe indenfor de desinficerende Stoffer. Da disse Forbindelser hører til de mest anvendte antiseptiske Midler, og da Forstaaelsen af deres Virkning ikke er helt klarlagt, er der saa meget mere Grund til netop at vælge Sølvsaltene.

Første Gang man ser Sølvsalte anført som desinficerende Middel er i 1884 i et Arbejde af *Miquel*[105]), som viser den meget stærke Virkning. Det undersøges derefter 1887 af *v. Behring*[106]) og 1890 af *Boer*[43]), men først gennem *Paul* og *Kroenigs*[24]) Arbejde 1897 kommer der nogen Udredning af Forsøgene. De viser ved deres Forsøg fuldstændigt klart, at den desinficerende Virkning maa skyldes den fri Sølvjon, og kun dennes Koncentration er af Betydning for Virkningen. De viser, at saasnart Sølvjonen bindes i komplexe Forbindelser, svinder den desinficerende Evne ganske uafhængigt af den samlede Sølvmængde.

Jeg vil ikke komme nærmere ind paa den therapeutiske Anvendelse af Sølvsalte og de Strømninger, der har været i Opfattelsen af den mest hensigtsmæssige Form for denne Behandling. Jeg vil blot omtale de Forhold, der har fremkaldt disse forskellige Opfattelser, da de ogsaa har haft Indflydelse paa Forstaaelsen af Vækstthæmningsforsøgene.

Efter at Paul og Kroenig havde vist, at det var Sølvjonen, der var den desinficerende Faktor, mente man, at Tilstedeværelsen af Klorider og Æggehvidestoffer maatte hindre den desinficerende Virkning paa Grund af de Udfældninger, de fremkalder. For at faa bedre Virkning prøvede man derfor at anvende Sølvforbindelser, som ikke gav Udfældninger med disse Stoffer. Der blev ogsaa i Handlen udbudt meget talrige Sølvforbindelser med denne Egenskab, idet Sølvsaltenes Evne til at indgaa komplexe Forbindelser letter Fremstillingen af saadanne Stoffer. Den therapeutiske Virkning blev dog ikke afgørende bedre, og man begyndte derfor at undersøge de kemiske Forhold nærmere, især ved at maale, hvilken Sølvjonkoncentration man opnaaede med de forskellige Præparater. Saadanne Maalinger er især udført af *Paul*[107]), *Neergaard*[61])[a. e.], *Gjaldbæk*[108]), *Schlee*[109]); angaaende Betydningen af disse Maalinger for Therapien vil jeg henvise til en Oversigt heraf af *K. O. Møller*[110]), som dog ogsaa har medtaget en Del af de i dette Arbejde meddelte Resultater[111]). Alle Forsøgene støtter den Opfattelse, at Sølvjonkoncentrationen, i den Mængde Præparaterne anvendes i Praxis, er saa stor, at en væsentlig Del af Sølvet alligevel bindes til Vævets Klorjon. Naar man ingen Udfældninger ser, skyldes det Dannelsen af kolloid AgCl. Resultatet af disse Undersøgelser er, at den Sølvjonkoncentration, man opnaar, i en »biologisk« Vædske bliver den samme, hvad enten man sætter Ag. NO_3 eller en komplex Forbindelse til, saafremt man i det hele taget sætter saa meget til, at der opnaas nogen antiseptisk Virkning. Disse Resultater støttes ogsaa meget af de af Johanne Christiansen[112]) udførte Desinfektionsforsøg, der viser, at jo mere komplex en Sølvforbindelse er, jo større Koncentration maa der anvendes for at dræbe Bakterierne. Ved at gøre sine Desinfektionsforsøg meget kortvarige kommer dette Forhold meget tydeligt frem, idet Opløsningerne maa være meget koncentrerede.

Hele denne Opfattelse har været støttet meget af Betragtninger over dette Spørgsmaal, som er fremsat i et af *Gross*[113]) offentliggjort Arbejde (1912). Nogen Klarhed over selve Desinfektionsspørgsmaalet giver alle disse Undersøgelser ikke, saa lidt

som de Væksthæmningsforsøg, der er foretaget med Sølvsalte af *Eisenberg*[54]) og *Kuroya*[60]).

Et meget væsentlig Fremskridt er derfor de af *K. v. Neergaard*[61]) udførte Undersøgelser, hvor han i Tilslutning til sine Undersøgelser over Sølvforbindelsernes Forhold i Vævsvædsken, kommer ind paa Spørgsmaalet om hvilken Sølvjonkoncentration, der i Virkeligheden er nødvendig for at dræbe eller hæmme Bakterierne.

Ved disse Undersøgelser har han ved elektrometriske Maalinger paavist den meget lave Sølvjonkoncentration (c. Ag^+) der findes i mange af de Substrater, hvor man kan paavise Væksthæmning; en Størrelse, der er meget mindre end den c. Ag^+, der er nødvendig for at paavirke Bakterierne i destilleret Vand. Det maa dog fremhæves, at hans Hæmningsforsøg i destilleret Vand og hans Desinfektionsforsøg med Bouillon ikke svarer til de almindelige Fordringer til saadanne Forsøg og derfor ikke fuldt ud kan anvendes til Forklaring af disse Forhold.

Iøvrigt paaviser han forskellige Forhold ved Sølvets Binding til Substratet, og især viser han, at der bindes Sølv til Bakterierne og mener at kunne vise, at den Mængde, der bindes, følger Lovene for Adsorbtion.

Han hævder, at man ikke kan betragte Sølvjonkoncentrationen som den afgørende Faktor ved Hæmningsforsøgene, men maa tage hele Substratets kemisk-fysiske Opbygning i Betragtning. Dette Arbejde er jeg først bekendt med efter at have afsluttet en stor Del af mine Undersøgelser. Havde jeg kendt det tidligere, vilde jeg maaske have ændret lidt paa enkelte Forsøgs Tilrettelægning, saa at de to Arbejder havde været i mere Kontinuitet med hinanden, da deres Formaal ligger hinanden saa nær. Jeg mener at være naaet en Del videre i Forstaaelsen af Forholdene, fordi jeg ved at skelne de forskellige Faktorer skarpere, har søgt mere bestemt at præcisere Sølvjonens Virkning og da særlig Betydningen af dennes Koncentration; endvidere har jeg søgt at paavise det bundne Sølvs Funktion. Jeg mener herved at have angivet et Undersøgelsesprincip, der kan belyse de nærmere Enkeltheder ved Metalsaltenes Væksthæmning og

derved give Mulighed til at finde de mest formaalstjenlige Fremgangsmaader til at fremkalde Virkningen.

Inden jeg gaar over til Beskrivelsen af mine Forsøg over Sølvsaltenes Væksthæmning, maa jeg, til Forklaring af den tilsyneladende manglende Forbindelse med de forrige Kapitler, oplyse, at disse Undersøgelser er foretaget først. Efter en foreløbig Afslutning indsaa jeg, at det ikke var muligt at fortsætte mine Studier af de mere specielle Væksthæmningsforsøg, men at det var nødvendigt at udforme en bredere almen Basis for saadanne Forsøg.

Gennem den Oversigt, jeg har givet over visse Sider af Desinfektionslærens Udvikling, har jeg søgt at motivere, hvorfor jeg ansaa det for nødvendigt at tage Spørgsmaalet om Væksthæmningsforsøgenes Teknik op fra Grunden.

En Følge af denne Ændring i mit Arbejdes Formaal er, at der ved alle de hidtil beskrevne Forsøg er anvendt en anden Teknik end den, hvormed jeg foretog disse mine første Forsøg over Sølvsaltenes Væksthæmning. Naar jeg alligevel i sin Helhed har medtaget disse Forsøg er det, fordi de Undersøgelser, jeg har foretaget med den nye Teknik, fuldstændig bekræfter de tidligere Resultater og viser, at det vil være unødvendigt at gentage alle Forsøgene med den ny Metode. Denne Gruppe Forsøg har allerede været offentliggjort, men suppleres her paa forskellig Maade.

Som jeg allerede har omtalt skyldes Valget af Sølvsalte meget det, at man her har en Teknik, som tillader at bestemme Koncentrationen af den aktive Faktor — selv i ret komplicerede Opløsninger. Det viser sig dog, at der ogsaa er store Vanskeligheder, dels da de let reduceres af organiske Forbindelser, dels er de saa giftige, at det kun ved særlige Fremgangsmaader er muligt at maale Sølvjonkoncentrationen i selve Næringssubstratet.

Jeg vil nu først omtale den Metode, hvorpaa hele Undersøgelsen hviler: *Den elektrometriske Bestemmelse af Sølvjoner.*

Koncentrationen af Sølvjon i en Opløsning kan bestemmes ved elektrometriske Maalinger, idet man maaler den elektriske Spændingsforskel (den elektromotoriske Kraft) mellem to Sølv-

elektroder, hvoraf den ene anbringes i Opløsningen, medens den anden anbringes i en Opløsning, hvis Sølvkoncentration man kender og som ved en tredie Vædske er forbundet med den første.

Metoden svarer ganske til den elektrometriske Maaling af Brintjonkoncentrationen. Ved Hjælp af den af Nernst opstillede Ligning

$$E = 0.0577 \cdot \log \frac{c_1}{c_2} \ (18^0 \ C)$$

kan man beregne den ubekendte c $Ag^+ = c_2$, idet E = den maalte elektromotoriske Kraft i Volt, c, den kendte c Ag^+.

I Stedet for at maale Spændingen mellem de to Sølvelektroder, kan man maale dem hver for sig overfor en Normalelektrode. Finder man da Spændinger Ec_1 og Ec_2 haves $E = Ec_1 \div Ec_2$, idet Ec_1 og Ec_2's Fortegn bestemmes af Strømretningen.

I Virkeligheden er det ikke Sølvjonkoncentrationen, der indgaar i ovenstaaende Ligning for den elektromotoriske Kraft, men Sølvjonaktiviteten. Sølvjonaktiviteten (a) faar man ved at multiplicere Sølvjonkoncentrationen (c) med en Faktor (f), der kaldes Aktivitetskoefficienten.

$$a = c \cdot f$$

For fortyndede Opløsninger lader f sig med god Tilnærmelse beregne ved den Bjerrumske Formel[114]),

$$\div \log f = n \cdot 0{,}3 \sqrt[8]{c_{jon}}$$

hvor n er Jonens Valens og cjon er Opløsningens Jonkoncentration.

Hvis Opløsningens Jonnormalitet saaledes er 0.1 faas for en eengyldig Jon f. Eks. Ag) $\div \log f = 0.139$ f = 0.72, er Jonnormaliteten 0.001 faas f = 0.93. Saaledes bliver Sølvjonaktiviteten i en 0.1 n Sølvnitratopløsning 0.072. I en Opløsning med 0.001 n Sølvnitrat, 0.00093, medens i en Opløsning, der foruden at være 0.001 n med Hensyn til Sølvnitrat er 0.099 n med Hensyn til KNO_3 findes a = 0.00072, idet den samlede Jonkoncentration er 0.1. Det ses heraf, at Sølvjonaktiviteten bliver mindre

ved samme Sølvjonkoncentration, naar der er andre Salte tilstede.

Da Jonkoncentrationen i mine Forsøg ikke har været større end ca. 0.1 n, og i alle Forsøg omtrent af samme Størrelse, bliver den Fejl, jeg begaar ved at sætte Sølvjonkoncentrationen = Sølvjonaktiviteten ikke ret stor og uden Betydning, da Bestemmelsen af Væksthæmningen ikke kan foretages med større Nøjagtighed.

I nogle af Tabellerne har jeg foruden Sølvjonkoncentrationen c Ag^+ anført p Ag = ÷ log c Ag^+ svarende til Angivelsen af Brintjonkoncentration ved pH.

Maalingerne er foretaget efter det af Poggendorff—du Bois-Reymond angivne Kompensationsprincip[61]) [108]).

Der er benyttet:

En kalibreret Westons Maalebro, hvis Maaletraad er 1 m lang.

Et Kapillærelektrometer.

Til Sammenligningselement en 4 Volts Accumulator, der ved en variabel Modstand paa ca. 40 Ohm indstilles til at give samme Spændingsfald paa hele Maaletraaden som et Westons Normalelement. Hver mm paa Maaletraaden kommer derved til at svare til 1.019 Millivolt.

Til Sammenligningselektrode er brugt en Calomelelektrode med mættet KCl Opløsning. Som Ledningsvædske er brugt en Opløsning, der er ca. 3 molær med Hensyn til KNO_3 og 0.45 molær m. H. t. $NaNO_3$.

Som Sølvelektrode er benyttet en Traad af rent Sølv (Diameter 1 mm) præpareret paa følgende Maade: Traaden slibes først med Sandpapir, derefter overtrækkes hele Traaden, med Undtagelse af de 4 cm, der skal neddyppes i Undersøgelsesvædsken, med Celluloidopløsning. Elektroden behandles før Maalinger elektrolytisk med en 0.001 molær Sølvnitratopløsning, idet den anvendes som Anode ved en Strømstyrke paa ca. 10 Milliampere i 2 Minutter, hvorefter den aftørres omhyggeligt med rent hydrophob Vat. Præpareret paa denne Maade opnaas et ret konstant Potential. Dette bestemmes før Maalingerne ved at maale den elektromotoriske Kraft (Ec_1) mellem Calomelelektro-

den og en Sølvelektrode i en Opløsning, der er 0.01 molær m. H. t. $AgNO_3$ og 0.05 m. H. t. KNO_3, denne Størrelse findes til 0,437 Volt.

I nogle af Forsøgene, som jeg har foretaget til sidst, er Sølvelektroden behandlet efter en Metode angivet af *K. v. Neergaard*[61])[a]. Elektroden afpudses før hvert Forsøg med fint Smergellærred. Der opnaas herved et meget konstant Potential, men noget mindre end det lige anførte, da det under de anførte Omstændigheder findes til 0.433 Volt.

Maalingerne i Opløsninger uden Pepton giver meget ensartede Resultater efter ca. 2 Timer; Ligevægten mellem Opløsning og Elektrode indstiller sig ikke momentan, men senest efter 2 Timer er der naaet en Værdi, som holder sig konstant og let lader sig reproducere. Disse nøjagtige Resultater kan dog kun opnaas, saalænge den totale Sølvkoncentration er over $0{,}5 \cdot 10^{\div 4}$. I de tidligere nævnte Arbejder er denne Grænse sat noget lavere, men jeg finder, at man under de komplicerede Forhold, der foreligger ved Maalinger i Næringssubstrater, ikke kan gaa lavere.

Jeg vil først omtale den første Gruppe Hæmningsforsøg, hvortil den mere enkelte Teknik er anvendt og som er kombineret med elektrometriske Sølvjonmaalinger, derefter vil jeg omtale de Forsøg, der er foretaget med en Teknik svarende til den ved Benzoesyreundersøgelserne.

Alle Undersøgelser af Hæmningsvirkningen er foretaget i flydende Næringssubstrater ved Tilsætning af faldende Mængder af $AgNO_3$. Hver Kultur har bestaaet af 5 cm^3 Næringssubstrat og 1 cm^3 Sølvnitratopløsning, afpipetterede under aseptiske Kauteler. Koncentrationen af $AgNO_3$ er valgt saaledes, at den i Forforsøgene falder til ca. $\frac{1}{3}$ fra Glas til Glas, medens den i Hovedforsøgene falder til $\frac{1}{2}$.

Tilsaaningen er her foretaget med en Øse af en 18—24 Timers Bouillonkultur af en Stamme B. coli com. betegnet B c K, der stammer fra Urin fra en Patient med Pyelitis.

Som Udtryk for Hæmningen er valgt den mindste Koncentration, der hindrer makroskopisk synlig Vækst efter 48 Timer ved 37°, naar man iagttager Kulturen med skraat indfaldende Lys. Eftersynet er fortsat mindst 5 Dage. I de fleste Tilfælde

kan Hæmningen allerede bedømmes efter 24 Timer, i saa Fald findes dog ofte Kulturer med tvivlsom Vækst, som efter 48 Timer bliver tydelig. Senere end 48 Timer kommer der Vækst i nogle Tilfælde, men dette omtales senere. I Tilfælde, hvor der paa Grund af andre Uklarheder kan være Tvivl, er der foretaget Podning paa skraa Agar.

Følgende Næringssubstrater er anvendt:

1) Laboratoriets almindelige Kødvands-Peptonbouillon (1 % Pepton), som giver særdeles kraftig Vækst.

2) Peptonvand a. ½ % »Witte« Pepton opløst i en Opløsning indeholdende 0.02 % $MgSO_4$, K_2HP0_4, $CaHPO_4$.

Peptonvand b. Tilsvarende men 2½ % Pepton og tilsat 0,2 % Glukose.

3) Æggehvidefrit Substrat (betegnet M II)

Asparaginsurt Natrium	0.5 %
Ammonium-laktat	0.6 %
KH_2P0_4	0.2 %
Na_2HP0_4	0.2 %
NaCl	0.02 %

opløst i destilleret Vand; Dampsteriliseret ved 100° 3 Gange 5 Minutter.

Bact. coli, Bact. Proteus og Bact. prodigiosus vokser godt paa dette Substrat, selv om Væksten er noget langsommere end paa Bouillon.

Man ser let, at Sammensætningen er ret nær den samme som Substrat L. Man vil bemærke, at der ikke har været tilsat $MgS0_4$; naar Bakterierne alligevel har kunnet vokse heri, skyldes det muligvis, at der er anvendt almindeligt Glas. Desuden er der ikke forsøgt Vækst i Passager i dette Substrat.

4) Æggehvidefrit Substrat (betegnet M III)

Leucin	0.2 %
NH_4N0_3	0.8 %
K_2HP0_4	0.1 %
NaH_2P0_4	0.1 %

opløst i destilleret Vand. Dampsteriliseret ved 100° 3 Gange 5 Minutter.

Bact. coli giver paa dette Substrat ringere Vækst end paa M II.

pH er i alle Tilfælde bestemt kolorimetrisk og ved Hjælp af Na0H indstillet til ca. 7.2.

Maalinger af Sølvjonkoncentrationen i Næringssubstraterne.

Ved Tilsætning af $AgN0_3$ til Næringssubstraterne indtræder forskellige Reaktioner, som bevirker, at Sølvjonkoncentrationen ved samme Mængde total-Sølv bliver mindre end ved Blanding med Vand. Dette skyldes for en stor Del Dannelsen af komplexe Forbindelser med de organiske Stoffer, desuden spiller Adsorbtion til kolloide Stoffer i nogle Tilfælde en stor Rolle. Dannelsen af uopløselige Forbindelser spiller mindre Rolle, da Sølvjonkoncentrationen i Hæmningsforsøgene er saa lille, at der for det meste ikke kan udfældes saadanne Forbindelser. For dog i saa høj Grad som muligt at undgaa Bundfald, er der kun tilsat meget lidt NaCl til de specielle Substrater, der er anvendt.

For at faa Kendskab til Sølvets Binding under de forskellige Vækstbetingelser har jeg foretaget en Del Maalinger af Sølvjonkoncentrationen i Blandinger af Sølvnitrat og de forskellige Næringssubstrater eller deres Bestanddele. Disse Maalinger omfatter 3 Grupper: 1) Peptonholdige Substrater. 2) Æggehvidefri Substrater. 3) Forskellige Substrater tilsat Natriumtiosulfat. 4) Kødvandspeptonbouillon tilsat Jodkalium.

Den første Gruppe viser sig at frembyde særlige Forhold, som ikke før er beskrevet, idet Peptonopløsning tilsat Sølvnitrat ikke ved den elektrometriske Maaling giver noget konstant Potential; dette falder stadig, og man kan derfor ikke angive bestemt Værdi for Sølvjonkoncentrationen, men kun angive de maalte Størrelser indenfor Forsøgstiden.

Dette synes at have to Aarsager, for det første indtræder Ligevægten mellem Vædske og Elektrode meget langsomt, for det andet reagerer Sølvet stadig med Peptonet.

De maalte Værdier er anført paa Fig. XI.

Man ser paa Kurverne først et stærkt Fald, som væsentlig skyldes den langsomme Indstilling af Elektrode, idet den gentages, naar man sætter frisk Elektrode til Vædsken, efter at det

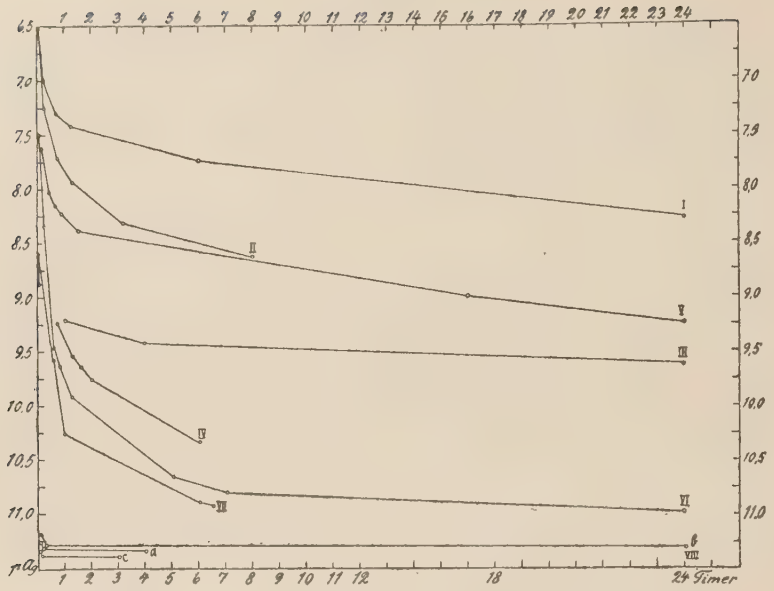

Fig. 11.

Kurver over de maalte cAg+ i forskellige peptonholdige Opløsninger (maalt ved ca. 18° C.) opbevaret i Mørke. (Punkterne angiver de foretagne Maalinger).

I. Peptonvand a ($^1/_2$ % Pepton) tilsat $AgNO_3$ til $^1/_{16} \cdot 10^{\div 3}$ m, hvorefter Opløsningen straks er forsynet med en Elektrode, som er forblevet der i 24 Timer, i hvilken Tid Potentialet af og til er maalt, de sidste 16 Timer var Opløsningen opbevaret ved 37°, men blev afkølet inden Maalingen. Efter 24 Timer ombyttedes Elektroden med en frisk præpareret og de derefter maalte Potentialer findes i II.

II. Den med Elektrode forsynede Opløsning opbevaret ved 18°.

III. Bouillon (1 % Pepton) tilsat $AgNO_3$ til $^1/_{16} \cdot 10^{\div 3}$ m forsynes med Elektrode og opbevares 24 Timer ved ca. 18° C.

IV. Bouillon (1 % Pepton) tilsat $AgNO_3$ til $^1/_{20} \cdot 10^{\div 3}$ m opbevares først 48 Timer ved 37°, forsynes efter Afkølingen med Elektrode, og maales i 6 Timer opbevaret ved 18°.

V. Peptonvand b. ($2^1/_2$ % Pepton) tilsat $AgNO_3$ til $^1/_5 \cdot 10^{\div 3}$ m forsynet straks med Elektrode opbevaret ved 18°.

VI. Peptonvand b. ($2^1/_2$ % Pepton) tilsat $AgNO_3$ til $^1/_4 \cdot 10^{\div 3}$ m opbevaret først 48 Timer ved 37°, derefter forsynet med Elektrode og opbevaret ved 18° under Maalingerne.

VII. Peptonvand b. ($2^1/_2$ % Pepton) tilat $AgNO_3$ til $^1/_8 \cdot 10^{\div 3}$ m som foregaaende.

VIII. M II + $5 \cdot 10^{\div 3}$ m $Na_2S_2O_3$ tilsat $AgNO_3$ til $10^{\div 3}$ m
a) forsynet straks med Elektrode opbevaret ved 18°,
b) først opbevaret 4 Timer ved 37°, derefter forsynet med Elektrode, derefter opbevaret 48 Timer ved 18°,
c) først opbevaret 48 Timer ved 37°, derefter forsynet med Elektrode og opbevaret ved 18°.

stærke Fald er ophørt (se Kurve I og II). Dernæst, men ofte først efter flere Timer, kommer et langsomt Fald, som stadig fortsætter sig, næsten følgende en ret Linje.

At dette Fald kan blive meget stort ses af Kurve I og II, hvor pAg^+ viser et Fald fra 7.75 til 8.64 (cAg^+ $18 \cdot 10^{\div 9}$ til $2.3 \cdot 10^{\div 9}$) paa 24 Timer; samt af Kurve V og VII, pAg falder fra 8.70 til 10.85 (cAg^+ $200 \cdot 10^{\div 11}$ til $1.4 \cdot 10^{\div 11}$) paa 48 Timer (tiltrods for at Vædsken indeholdt lidt mere $AgN0_3$).

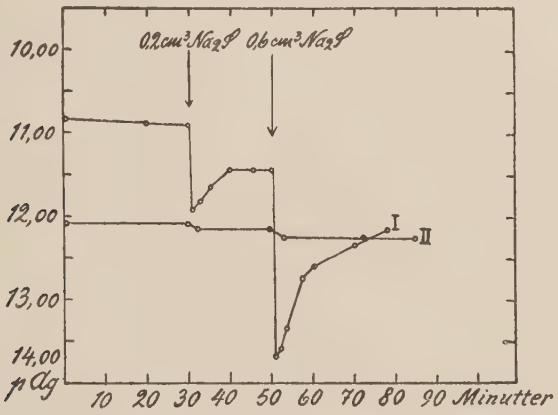

Fig. 12.

Variation af pAg ved Tilsætning af en ca. 0,0001 mol. Na_2S til
I. 20 cm³ Peptonvand b + 1 cm³ 0,0005 mol. $AgNO_3$ (efter 48 Timers Henstand ved 37° C.
II. 20 cm³ 0,005 mol. $Na_2S_2O_3$.

Det ses yderligere, at Sølvets Binding stiger meget stærkt, naar Peptonmængden forøges.

Til Sammenligning er opført nogle Kurver (VIII a, b, c) over Maalinger i Opløsninger af Natriumtiosulfat, som viser konstant Værdi hele Forsøgtiden (omtales senere).

Som det fremgaar af disse Maalinger, kan man slet ikke tale om nogen bestemt Sølvjonkoncentration i saadanne Substrater; men det ses, at kun en meget ringe Del af total-Sølvet findes som Sølvjon.

Den stadige Forandring kan muligvis forklares ved, at Processen, som skematisk kan angives som $Ag^+ +$ Pepton $\rightleftarrows$ Ag-

pepton$^+$, foregaar langsomt, selv om man ogsaa maa tænke paa, at der muligvis foregaar en Reduktion eller anden Forandring af Sølvet; til yderligere Belysning af den langsomme Reaktionshastighed har jeg anstillet følgende Forsøg.

Til 20 cm^3 Peptonvand b sættes 1 cm^3 0.005 m $AgN0_3$, Blandingen hensættes 48 Timer ved 37°. Opløsningen kommes nu i Elektrodekarret, og Potentialet aflæses gentagne Gange, i 6 Timer (Kurve VII, Fig. XI). Der tilsættes nu 0.2 cm^3 af en ca. 0,0001 m Na_2S-Opløsning, saa hurtigt som muligt aflæses Potentialet atter. Der findes nu et betydeligt Fald af cAg^+, som snart atter stiger. Efter at Stigningen er blevet mindre brat tilsættes 0,6 cm^3 Na_2S-Opløsning, og Processen gentager sig. Et tilsvarende Forsøg med Bouillon giver samme Resultat. Anvender man derimod en $5 \cdot 10^{-3}$ molær Opløsning af $Na_2S_20_3$ faas et ganske andet Resultat, idet Opløsningen straks efter Tilsætningen indstiller sig paa en ny Ligevægt.

Resultaterne er tegnet paa Fig. XII.

Det tilsatte Na_2S binder straks næsten alle fri Sølvjoner under Dannelsen af Ag_2S, hvorfor der straks kommer et stort Fald af cAg^+; men medens Natriumtiosulfatkomplexet momentan afgiver Sølvjoner og indstiller sig i den ny Ligevægt, forklares den fundne Sølvjonsvingning i Peptonopløsningen bedst ved at antage, at Ag^+ kun langsomt afgives af det bundne Sølv. Det dannede Ag_2S udfældes ikke, men Opløsningen farves ganske svagt brun, idet Sølvsulfidet findes i kolloid Tilstand.

Ogsaa den anden Gruppe med æggehvidefri Substrater frembyder en Del Vanskeligheder, som her især skyldes Udfældninger ved Tilsætning af den for nøjagtige Maalinger nødvendige Mængde Sølvnitrat. Maalingerne er derfor foretaget i Opløsninger af enkelte af de anvendte Stoffer. Da den nødvendige Mængde Sølvnitrat er saa meget større end den, der anvendes i Hæmningsforsøgene, bliver Resultaterne af mindre Betydning, men giver et Indtryk af den Grad disse Stoffer binder Sølvet. Da disse Komplexer saavel som Peptonforbindelserne er afhængige af pH, er der i alle Forsøg sørget for, at pH har ligget omkring 7.2.

Tabel V.

20 cm³ Opløsnfng bestaaende af +	$AgNO_3$ molær	Potential mod Calomelelk.	pAg	cAg+	$\frac{cAg+}{AgNO_3}$
Leucin $^1/_2$ % NH_4NO_3 0,1 m	$^1/_5 \cdot 10^{\div 3}$	0.300 Volt	4.39	$4 \cdot 10^{\div 5}$	0.20
Asparaginsurt Na $^1/_2$ % + NH_4 laktat $^2/_3$ %	$^1/_5 \cdot 10^{\div 3}$	0.303 „	4.32	$4.7 \cdot 10^{\div 5}$	0.24
Peptonvand a. Maaling efter 6 Timer	$^1/_{16} \cdot 10^{\div 3}$	0.106 „	7.73	$1.8 \cdot 10^{\div 8}$	$0.29 \cdot 10^{\div 3}$
Peptonvand a. Maaling efter 24 + 6 Timer	$^1/_{16} \cdot 10^{\div 3}$	0.053 „	8.63	$2.3 \cdot 10^{\div 9}$	$0.35 \cdot 10^{\div 4}$
Peptonvand b. Maaling efter 6 Timer	$^1/_5 \cdot 10^{\div 3}$		8.7	$2 \cdot 10^{\div 9}$	$0.75 \cdot 10^{\div 5}$
Peptonvand b. Maaling efter 48 + 6 Timer	$^1/_4 \cdot 10^{\div 3}$	$\div$0.065 „	10.70	$2 \cdot 10^{\div 11}$	$0.65 \cdot 10^{\div 7}$

Elektrometriske Maalinger af Sølvjonkoncentrationen efter Tilsætning af $AgNO_3$ til forskellig Næringssubstrater eller Bestanddele af disse.

Resultaterne af Maalingerne er anført i Tabel V, hvor der til Sammenligning er anført nogle Uddrag af Kurverne fra Fig. XI.

Man er saaledes ikke kommet til nogen fuld Klarhed over Forholdet mellem cAg^+ og den samlede Sølvmængde i almindelig sammensatte Næringssubstrater ved Anvendelse af de Sølvmængder, der bruges til Hæmningsforsøg. I Modsætning hertil giver Maalingerne i den tredie Gruppe Substrater, hvor Sølvet er stærkt komplex bundet, en Del nærmere Oplysninger.

Det anvendte Komplex er Natriumsølvtiosulfat $Na_3\,Ag\,(S_2O_3)_2$, der dissocierer $3\,Na^+ + (Ag\,(S_2O_3)_2)^{\div\div\div}$ og som opstaar ved Tilsætning af Ag^+ til en Opløsning af $Na_2S_2O_3$, og der dannes saa meget, at der opstaar en Ligevægt bestemt ved Ligningen

$$\frac{cAg^+ \cdot (cS_2O_3^{\div\div})^2}{cAg\,(S_2O_3)_2^{\div\div\div}} = K$$

hvor K er angivet til $10^{\div 13}$. Ved elektrometrisk Bestemmelse af cAg^+ har jeg fundet $10^{\div 13,3}$ (se Tabel VI) og vist, at denne Værdi ogsaa gælder ved Mængder, der er anvendt i Hæmningsforsøgene, Tabel VI (2—4).

Tabel VI.

	Til Maaling 20 cm³. Molaritet af			Opløst i		Elektromotorisk Kraft overfor $^1/_{100}$m $AgNO_3$	pAg	cAg+ maalt	cAg+ beregnet	$\frac{cAg+}{AgNO^3}$	Komplex-konst., maalt	
	$AgNO_3$	$Na_2S_2O_3$	KNO_3	Vand	M II med pH							
1	$10 \div 3$		0.05	+		0.057 Volt	2.98	$1.04 \cdot 10 \div 3$	$10 \div 3$			1
2	$10 \div 3$	$10 \div 1$	0.05	+		0.711 „	14.32	$0.48 \cdot 10 \div 14$	$0.4 \cdot 10 \div 14$	$0.4 \cdot 10 \div 11$	$10 \div 13{,}32$	2
3	$10 \div 3$	$5 \cdot 10 \div 3$	0.05	+		0.538 „	11.31	$0.50 \cdot 10 \div 11$	$0.5 \cdot 10 \div 11$	$0.5 \cdot 10 \div 8$	$10 \div 13{,}37$	3
4	$5 \cdot 10 \div 4$	$5 \cdot 10 \div 3$	0.05	+		0.564 „	11.77	$0.17 \cdot 10 \div 11$	$0.2 \cdot 10 \div 11$	$0.4 \cdot 10 \div 8$	$10 \div 13{,}27$	4
5	$10 \div 3$	$5 \cdot 10 \div 3$			7.2	0.537 „	11.30	$0.50 \cdot 10 \div 11$	$0.56 \cdot 10 \div 11$	$0.5 \cdot 10 \div 8$		5
6	$10 \div 3$	$5 \cdot 10 \div 3$			8.8	0.537 „	11.30	$0.50 \cdot 10 \div 11$	$0.56 \cdot 10 \div 11$	$0.5 \cdot 10 \div 8$		6
7	$5 \cdot 10 \div 4$	$5 \cdot 10 \div 3$			7.2	0.564 „	11.77	$0.16 \cdot 10 \div 11$	$0.16 \cdot 10 \div 11$	$0.3 \cdot 10 \div 8$		7
8	$5 \cdot 10 \div 5$	$10 \div 3$			„	0.544 „	11.43	$0.37 \cdot 10 \div 11$	$0.25 \cdot 10 \div 11$	$0.7 \cdot 10 \div 7$		8
9	$5 \cdot 10 \div 5$	$2 \cdot 10 \div 4$			„	0.433 „	9.68	$0.20 \cdot 10 \div 9$	$0.25 \cdot 10 \div 9$	$0.4 \cdot 10 \div 5$		9
10	$5 \cdot 10 \div 6$	$2 \cdot 10 \div 4$			„					$0.1 \cdot 10 \div 5$		10
11	$0.33 \cdot 10 \div 2$	0.166			„					$0.2 \cdot 10 \div 11$		11
12	$10 \div 3$	$5 \cdot 10 \div 3$			Pepton $2^1/_2$ %	0.547 „	11.52	$0.3 \cdot 10 \div 11$	$0.63 \cdot 10 \div 11$			12
13	$10 \div 3$	$5 \cdot 10 \div 3$			„	0.663 „	13.60	$0.2 \cdot 10 \div 13$	$0.6 \cdot 10 \div 14$			13

Elektrometriske Maalinger af Sølvjonkoncentrationen i Opløsninger af $AgNO_3$ i Substrater indeholdende Natriumtiosulfat.

1) Ren vandig Opløsning af $AgNO_3$.
2-4) Ren vandig Opløsning med Tilsætning af $Na_2S_2O_3$.
5-11) $AgNO_3$ opløst i Substrat M II med Tilsætning af $Na_2S_2O_3$.
12) $AgNO_3$ opløst i Peptonvand $2^1/_2$ % med Tilsætning af $Na_2S_2O_3$ Maaling straks.
13) $AgNO_3$ opløst i Peptonvand $2^1/_2$ % med Tilsætning af $Na_2S_2O_3$ Maaling efter 24 Timer.

Af Ligningen kan man se, at cAg^+ forandrer sig stærkt, naar Tiosulfatkoncentrationen forandres.

Af de fundne Værdier ses det (Tab. VI), at Sølvjonkoncentrationen bliver ens, om $Na_2S_2O_3$ er opløst i Vand eller i M II.

Nr. 5 er taget fra de Maalinger, der er anført i Kurve 8 paa Fig. I, og det vises der, at cAg^+ holder sig fuldstændig konstant i Thermostat ved 37°.

Nr. 6 viser, at Sølvjonkoncentrationen ikke forandres, selv om pH forandres fra 7,2 til 8,8. Nr. 7—10 svarer i Værdierne til Substrater brugt ved Hæmningsforsøgene, idet 9 dog kun er maalt, da Sølvmængden i 10 er for lille til nøjagtig Maaling.

Nr. 11 svarer til et senere omtalt Forsøg, der viser, at Bakterierne vokser udmærket selv ved en Sølvmængde 0,0033 molær, naar det blot tilsættes tilstrækkelig Mængde Natriumtiosulfat.

Ved Tilsætning af større Mængder $AgN0_3$ indtræder der en Brunfarvning (Sulfiddannelse) og senere en Udfældning. Dette indtræder endnu lettere, naar man bruger Peptonopløsning i Stedet for M II. Maalingerne 12 og 13 viser, hvorledes cAg^+ svinder under denne Proces, idet 13 er samme Opløsning som 12, efter at denne er opbevaret 24 Timer ved 37°.

Af Maalingerne af tredie Gruppe fremgaar, at et Substrat, bestaaende af M II $+ 5 \cdot 10^{-3}$ m $Na_2S_2O_3$ tilsat en bestemt Mængde $AgN0_3$, har en ganske bestemt cAg^+, som holder sig konstant, saafremt Blandingen selv ved Opbevaring 48 Timer ved 37° holder sig ufarvet. Af Kurve 2 paa Fig. XII ses, at Ligevægten i et saadant Substrat indstiller sig øjeblikkeligt.

Maalingerne i den sidste Gruppe Substrater er foretaget, da man kunde formode, at Bakterierne kunde have større Modstandskraft overfor Sølvjonen, saafremt de voksede i et mere »optimalt« Næringssubstrat, der indeholdt Kødvand og Pepton. Det vilde derfor have Interesse at bestemme den Sølvjonkoncentration, som i dette Tilfælde var nødvendigt. Da Tiosulfatkomplexet ved Tilstedeværelsen af Pepton undergaar en Reduktion, kan det ikke anvendes her, og man maa derfor finde en anden Fremgangsmaade.

Ved til en Opslemning af et tungt opløseligt Sølvsalt at sætte en bestemt Mængde af et letopløseligt Salt med samme Anjon,

faar man en Opløsning med en meget veldefineret Sølvjonkoncentration. Saaledes bestemmes Sølvjonkoncentrationen i en Opslemning af AgJ i en Opslemning af KJ ved Ligningen

$$cAg^{+} \cdot cJ^{\div} = 10^{\div 16}$$

idet AgJ's Opløselighedsprodukt angives til $10^{\div 16}$. Denne Ligning gælder kun i ret fortyndede Opløsninger; i mere koncentrerede Opløsninger bliver man nødt til at tage Hensyn til Aktivitetsforholdene; ved større Jodidjonkoncentrationer dannes der desuden Komplexer af Typen $AgJ_2^{\div}$. Det maa formodes, at Ligningen ogsaa maa gælde i kolloide Systemer af AgJ. Det er ikke ved disse Forsøg lykkedes at bevise dette, men det paavises, at Sølvjonkoncentrationen i saadanne Systemer er omvendt proportional med Jodidjonkoncentrationen. Man har saaledes et Middel til at fremstille Substrater med veldefineret Sølvjonkoncentration. Kan man yderligere vise, at denne Koncentration holder sig konstant under de Forhold, Substratet udsættes for under Vækstforsøgene, vil man have et Middel til at løse det stillede Spørgsmaal.

Maalingerne er foretaget ganske som de andre Maalinger, kun har jeg her anvendt Sølvelektroden præpareret paa den sidst omtalte Maade.

Sølvjodidet fremstilles under selve Forsøget. Til Kødvandspeptonbouillon sættes først KJ og derefter $AgN0_3$; herved faas en næsten klar, let fluorescerende Vædske, som holder sig klar selv ved lang Henstand ved 37° C.

Vanskeligheden ved Forsøgene er at fremstille Opløsninger med veldefineret Koncentrationer af de forskellige Stoffer. Dette hidrører fra den relativ store Koncentration af AgJ, der skal fremstilles, samtidig med det meget lille, men bestemt definerede Overskud af $J^{\div}$, der er nødvendig for at opnaa en Sølvjonkoncentration i det Omraade, man skal anvende i Hæmningsforsøgene. Ved saaledes at sammenblande 10 cm^3 0,00202 molær Opl. af KJ med 10 cm^3 0,00200 molær Opløsning af $AgN0_3$, faar man en Opslemning af AgJ i en Opløsning, der er $10^{\div 5}$ m. H. t. $J^{\div}$, medens Sølvjonkoncentrationen er $10^{\div 11}$. Vil man nu fremstille en Opløsning, hvor Sølvjonkoncentrationen kun er halv saa stor,

maa man til 10 cm^3 0,00200 molær $AgN0_3$ tage 10 cm^3 0,00204 m KJ. Det ses, at selv meget smaa Fejl i Opløsningens Koncentration eller Fejl ved Afpipetteringen vil forrykke Sølvjonkoncentrationen betydeligt. Da nu ved Forsøgene en vis, men ukendt Mængde af Sølvet bliver bundet til Peptonet og derved giver en meget stor Forandring af Jodjonkoncentrationen, ses det, at det vil være meget vanskeligt at fremstille Opløsninger med forudbestemt Sølvjonkoncentration. Man maa derfor bestemme Sølvjonkoncentrationen i hvert enkelt Tilfælde.

Medens Maalinger af Sølvjonkoncentrationen i Bouillon ikke giver nogen fast Værdi, men viser et stadig faldende Potential (d. v. s. Sølvjonkoncentrationen bliver mindre), findes ved de her anvendte Substrater ved 18° C. et meget konstant Pontential. I det hele svarer disse Maalinger ret nøje til de Forhold, som fandtes ved de tiosulfatholdige »mineralske« Substrater. De reagerer saaledes ogsaa momentan med Sulfidjon.

Opbevares Substraterne derimod ved 37°, bliver Sølvjonkoncentrationen noget mindre konstant, men dette omtales under Forsøgene.

Ved de Maalinger, som er anført i Tab. VII, har følgende Fremgangsmaade været anvendt. Der fremstilles under aseptiske Kauteler forskellige Blandinger af Kødvandpeptonbouillon (1 % Pepton, KJ og $AgN0_3$, idet der afpipetteres 50 cm^3 Bouillon, 10 cm^3 · $10^{\div 3}$ m KJ og 5 cm^3 2 · $10^{\div 3}$ m $AgN0_3$. Til disse 65 cm^3 betegnet B_1) sættes 10 cm^3 enten af 1) dest. Vand, 2) 8 · $10^{\div 5}$m KJ, 3) 4 · $10^{\div 4}$ m KJ, 4) 2 · $10^{\div 3}$ m KJ eller 5) $10^{\div 2}$ m KJ, saaledes at det »teoretiske« Overskud af KJ stiger 5 Gange fra Portion til Portion.

Af de saaledes fremstillede Substrater anvendtes 4 $\times$ 5 cm^3 til Kulturforsøg, medens Resten anvendtes til Maaling af Sølvjonkoncentrationen, dels straks, dels efter 24 eller 48 Timers Opbevaring ved 37° C.

Det ses af Tab. VII at de fundne Værdier afviger fra dem, der lader sig beregne af Sølvjodidets Opløselighedsprodukt. Afvigelserne er ret uregelmæssige, men ser man paa de fundne Værdier i de Tilfælde, hvor »Overskudet« af KJ er større end 1,08 · $10^{\div 5}$ (3—5), ses det, at Sølvjonkoncentrationen falder til ca.

$^1/_5$, hver Gang Koncentrationen af KJ stiger 5 Gange. Det ses, at Opbevaring ved 37° C. i 48 Timer giver en tydelig Formindskelse af Sølvjonkoncentrationen, men Formindskelsen bliver mindre, jo større Overskud der findes af KJ. Det maa dog bemærkes, at selv de største Forandringer i disse Forsøg er smaa i Forhold til dem, der fandtes ved Maaling af Sølvjonkoncentrationen i Peptonopløsninger, hvortil der alene var tilsat Sølvnitrat.

Da Unøjagtigheden viser sig at være størst i det Omraade af Sølvjonkoncentration, som er anvendelig til Kulturforsøgene, er de næste Forsøg foretaget efter en noget anden Fremgangsmaade; det bliver herved muligt at faa en ret jævn Stigning af Sølvjonkoncentrationen i det ønskede Omraade.

Tabel VII.

B^1 Nr.	65 cm³ B_1 + 10 cm³	Molaritet af det beregnede Overskud af J÷	Molaritet af Ag+ beregnet	Molaritet af Ag+ fundet ved Maaling straks	Molaritet af Ag+ fundet efter 24 Timer ved 37°	Molaritet af Ag+ fundet efter 48 Timer ved 37°
1	dest. Vand		10^{-8}	$1 \cdot 10^{-11}$		$0{,}63 \cdot 10^{-11}$
2	$8 \cdot 10^{-5}$m KJ	$1{,}08 \cdot 10^{-5}$	$0{,}94 \cdot 10^{-11}$	$0{,}66 \cdot 10^{-11}$	$0.52 \cdot 10^{-11}$	
3	$4 \cdot 10^{-4}$m KJ	$5{,}3 \cdot 10^{-5}$	$0{,}18 \cdot 10^{-11}$	$0{,}34 \cdot 10^{-11}$		$0{,}15 \cdot 10^{-11}$
4	$2 \cdot 10^{-3}$m KJ	$26{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}37 \cdot 10^{-12}$	$0{,}63 \cdot 10^{-12}$		$0{,}51 \cdot 10^{-12}$
5	10^{-2}m KJ	$133 \cdot 10^{-5}$	$0{,}75 \cdot 10^{-13}$	$1{,}1 \cdot 10^{-13}$		$1 \cdot 10^{-13}$

Elektrometriske Maalinger af Sølvjonkoncentrationen i Bouillon B_1 indeholdende KJ.

Først fremstilles et Substrat bestaaende af 300 cm³ Bouillon og 100 cm³ 10^{-2}m KJ, hvortil sættes 50 cm³ $2 \cdot 10^{-2}$ m $AgN0_3$. I dette bestemmes ved kortvarig Maaling Sølvjonkoncentrationen, da denne fandtes at være mindre, end det var ønsket, tilsattes yderligere 0,5 cm³ 10^{-2} m $AgN0_3$. Ved fornyet Maaling af Sølvjonkoncentrationen fandtes igen en for lille Værdi, hvorfor der tilsattes 0,1 cm³ 10^{-2} m $AgN0_3$. Sølvjonkoncentrationen havde nu naaet en Værdi, der kunde anvendes som den største Sølvjonkoncentration i Hæmningsforsøgene.

Af det saaledes fremstillede Substrat, betegnet B_2, afmaaltes Portioner paa 50 cm^3, som overførtes i sterile Flasker. Til disse sattes forskellige Mængder KJ, saaledes at det samlede Rumfang blev 70 cm^3 i alle Flasker, medens den tilsatte Mængde KJ steg til det dobbelte fra Portion til Portion.

Af de fremstillede Substrater anvendtes 4 $\times$ 5 cm^3 til Kulturforsøg, medens Resten anvendtes til Maaling af Sølvjonkoncentrationen, dels straks, dels efter 24 eller 48 Timers Opbevaring ved 37° C. De herved fundne Værdier er opført i Tab. VIII, hvor man ser, at der er opnaaet en Række Substrater med jævnt stigende Sølvjonkoncentration. Det ses, at Sølvjonkoncentrationen formindskes 2—4 Gange i Løbet af 48 Timer, men at Faldet bliver mindre, naar der er tilsat mere KJ.

Tabel VIII.

B_2 Nr.	50 cm^3 B_2 + 20 cm^3	Ved Maaling fandtes c Ag+		
		straks	efter 24 Timer ved 37° C.	efter 48 Timer ved 37° C.
1	dest. Vand	$1{,}6 \cdot 10^{\div 11}$	$1{,}4 \cdot 10^{\div 11}$	
2	$10^{\div 5}$m KJ	$1{,}6 \cdot 10^{\div 11}$		$0{,}42 \cdot 10^{\div 11}$
3	$2 \cdot 10^{\div 5}$m KJ	$1{,}2 \cdot 10^{\div 11}$		$0{,}39 \cdot 10^{\div 11}$
4	$4 \cdot 10^{\div 5}$m KJ	$0{,}83 \cdot 10^{\div 11}$	$0{,}69 \cdot 10^{\div 11}$	
5	$8 \cdot 10^{\div 5}$m KJ	$0{,}60 \cdot 10^{\div 11}$		$0{,}33 \cdot 10^{\div 11}$
6	$16 \cdot 10^{\div 5}$m KJ	$0{,}42 \cdot 10^{\div 11}$	$0{,}29 \cdot 10^{\div 11}$	

Elektrometriske Maalinger af Sølvjonkoncentrationen i Bouillon B_2 indeholdende KJ.

Sammenfatter man alle Maalingerne, kan man hævde, at man har opnaaet Substrater, som — trods deres Indhold af Pepton — bevarer en ret konstant Sølvjonkoncentration i 24 Timer og som endnu efter 48 Timers Ophold ved 37° C. kun er undergaaet en mindre Forandring. Disse Substrater vil derfor være anvendelige til Bestemmelsen af den mindste Sølvjonkoncentration, der kan hindre Bakterievækst i Kødvandspeptonbouillon.

Undersøgelserne af Væksthæmningen kan deles i tilsvarende Grupper som Maalinger af Sølvjonkoncentrationen.

I den første Gruppe har Resultaterne ikke været helt konstante, hvilket sandsynligvis kan forklares ved den paaviste stadige Forandring af Sølvjonkoncentrationen.

I den anden Gruppe har Resultaterne været endnu mere usikre, og især er der ofte kommet Vækst i Kulturer, som efter 48 Timer var vækstfri.

Resultaterne af disse to Grupper er samlet i Tab. IX og viser tydeligt, at den nødvendige Mængde $AgN0_3$ stiger svarende til Substratets Evne til at binde Sølvet. Sølvjonkoncentrationen har ikke kunnet maales direkte, men efter Beregninger af Resultaterne af Fig. XI har jeg angivet nogle Tal, der angiver det Størrelsesomraade, hvori cAg^+ ligger under Forsøgene.

Tabel IX.

Næringssubstrat	Mindste Mængde $AgNO_3$ der hæmmer	cAg+
Almindelig Bouillon	$2100 \cdot 10^{\div 7}$	$1 \cdot 10^{\div 8}$—$1.5 \cdot 10^{\div 10}$
Peptonvand a	$200 \cdot 10^{\div 7}$	$0.6 \cdot 10^{\div 8}$— $8 \cdot 10^{\div 10}$
— + 0.1 m NaCl	$200 \cdot 10^{\div 7}$	
Peptonvand b	$4200 \cdot 10^{\div 7}$	$0.3 \cdot 10^{\div 8}$— $2 \cdot 10^{\div 11}$
M II	$16 \cdot 10^{\div 7}$	[$10^{\div 7}$—]
M III	$4 \cdot 10^{\div 7}$	[$10^{\div 7}$—]

Resultaterne af Vækstthæmningsforsøg foretaget ved Tilsætning af $AgN0_3$ til Næringssubstraterne.

Gruppe III omfatter Substrater fremstillede af de andre Substrater ved Tilsætning af en Opløsning af $Na_2S_20_3$ steriliseret ved Kogning paa Vandbad i faa Minutter. Som omtalt tidligere fremkalder en vis Mængde $AgN0_3$ Brunfarvning; Forsøgene maa derfor begrænses til saadanne, hvor Hæmningen indtræder ved mindre Mængder $AgN0_3$. Ved Bouillon er dette kun lykkedes ved Tilsætning af $Na_2S_20_3$ til $10^{\div 3}$ m.

Resultaterne findes i Tabel X og adskiller sig fra de foregaaende ved at være meget konstante, især i Forsøgene med meget Tiosulfat.

Det ses, at den samlede Sølvmængde stiger stærkt, naar Sølvet bindes stærkere komplext, medens cAg^+ holder sig ret kon-

stant; kun findes der noget større Værdier i Nr. 4 og 8, men dette hidrører sandsynligvis fra, at Bindingen til de andre Stoffer i Substraterne i disse Tilfælde kommer til at spille en vis Rolle og Beregningen derfor ikke gælder nøjagtigt.

At det ikke er Sølvtiosulfatkomplexet, der har en Del af Virkningen, fremgaar af, at Bakterierne vokser godt i det under Nr. 7 angivne Substrat, der indeholder mange Gange mere af Komplexet end nogen af Hæmningsforsøgene. Det angivne Tal $30000 \cdot 10^{\div 7}$ m er saaledes mindre end den mindste Mængde $AgNO_3$, der under de givne Forhold giver Hæmning.

Tabel X.

	Næringssubstrat	$Na_2S_2O_3$ molær	Mindste Mængde $AgNO_3$ der hæmmer	Maalt cAg+	Beregnet cAg+
1	M II	$5 \cdot 10^{\div 3}$	$4000 \cdot 10^{\div 7}$m	$0.16 \cdot 10^{\div 11}$	$0.16 \cdot 10^{\div 11}$
2	M II + $^1/_2$% Glukose	$5 \cdot 10^{\div 3}$	$4000 \cdot 10^{\div 7}$ „		$0.16 \cdot 10^{\div 11}$
3	M II	$10^{\div 3}$	$400 \cdot 10^{\div 7}$ „	$0.37 \cdot 10^{\div 11}$	$0.25 \cdot 10^{\div 11}$
4	M II	$2 \cdot 10^{\div 4}$	$80 \cdot 10^{\div 7}$ „		$1.2 \cdot 10^{\div 11}$
5	M III	$5 \cdot 10^{\div 3}$	$5000 \cdot 10^{\div 7}$ „		$0.16 \cdot 10^{\div 11}$
6	Bouillon	$10^{\div 3}$	$2800 \cdot 10^{\div 7}$ „		$0.5 \cdot 10^{\div 11}$
7	M II	0.166	[$30000 \cdot 10^{\div 7}$ „		$0.6 \cdot 10^{\div 14}$

Resultaterne af Vækshæmningsforsøgene foretaget ved Tilsætning af $AgNO_3$ til Substrater indeholdende Natriumtiosulfat.

(7 viser den store Mængde $AgNO_3$ der kan tilsættes uden der fremkommer Væksthæmning.)

Der findes derfor ikke andre vækshæmmende Stoffer end Ag^+, og da dennes Koncentration, som tidligere vist, holder sig konstant under Forsøgsbetingelserne, viser Forsøget, at Sølvjon endnu i en Koncentration af $0{,}16 \cdot 10^{\div 11}$ kan hindre Bakteriens Vækst.

Til Undersøgelsen af Vækshæmningen i den sidste Gruppe, omfattende Kødvandspeptonbouillon med $AgJ + J^{\div}$, er de omtalte Substrater anvendt; der er herved opnaaet, at Sølvjonkoncentrationen har været kendt i hver enkelt Kultur under hele Forsøget. Da Sølvjonkoncentrationen ikke er helt konstant, har

man maattet tage Hensyn baade til Værdien ved Begyndelsen og ved Slutningen af Forsøget.

Da Forandringen af Sølvjonkoncentrationen har været mindst og mest ensartet de første 24 Timer, har der været Grund til at sætte Grænsen for Væksthæmning paa dette Tidspunkt og ikke efter 48 Timer som ved de øvrige Forsøg.

Dette spiller dog ingen Rolle ved Kulturerne med Bact. coli K., da Resultatet her væsentlig er ens efter 24 og 48 Timer; men, som det ses af nogle senere omtalte Forsøg, kan der være stor

Tabel XI.

Substrat B^1 Nr.	cAg+ straks	Vækst efter 24 T	Vækst efter 48 T	cAg+ efter 48 Timer ved 37° C.	Substrat B^2 Nr.	cAg+ straks	Vækst efter 24 T	Vækst efter 48 T	cAg+ efter 24 Timer ved 37° C.
1	$1 \cdot 10^{\div 11}$	÷	÷	$0{,}6 \cdot 10^{\div 11}$	1	$1{,}6 \cdot 10^{\div 11}$	÷	÷	
2	$0{,}6\ 10^{\div 11}$	++	++		2	$1{,}6 \cdot 10^{\div 11}$	÷	÷	$0{,}4 \cdot 10^{\div 11}$
3	$0.3 \cdot 10^{\div 11}$	++	++	$0{,}2 \cdot 10^{\div 11}$	3	$1{,}2 \cdot 10^{\div 11}$	÷	÷	$0.4 \cdot 10^{\div 11}$
4	$0{,}6 \cdot 10^{\div 12}$	++	++	$0{,}5 \cdot 10^{\div 12}$	4	$0.8 \cdot 10^{\div 11}$	÷	÷	
5	$1.1 \cdot 10^{\div 13}$	+	++	$1 \cdot 10^{\div 13}$	5	$0{,}6 \cdot 10^{\div 11}$	÷	÷	$0{,}3 \cdot 10^{\div 11}$
					6	$0{,}4 \cdot 10^{\div 11}$	++	++	

Resultaterne af Væksthæmningsforsøgene ved Tilsætning af $AgNO_3$ til Substraterne B_1 og B_2 indeholdende KJ.

Forskel paa Væksten efter 24 og 48 Timer, saafremt Sølvjonkoncentrationen i dette Tidsrum falder stærkt.

Resultaterne er opført i Tab. XI.

Der er her opført 2 Forsøgsrækker, B_1 med de først omtalte Substrater, B_2, med den anden Gruppe Substrater; de angivne Værdier for Sølvjonkoncentrationen er taget af Tab. VII og VIII.

Det ses, at den mindste hæmmende Sølvjonkoncentration ligger i det Omraade, hvor Sølvjonkoncentrationen holder sig ret konstant selv efter 48 Timer. I Forsøgene med B_1 findes denne Størrelse at ligge mellem $0{,}6 \cdot 10^{\div 11}$ og $10^{\div 11}$; i Forsøgene med B_2 mellem $0{,}4 \cdot 10^{\div 11}$ og $0{,}6 \cdot 10^{\div 11}$. Disse Størrelser er noget større end den Værdi ($0{,}16 \cdot 10^{\div 11}$), der fandtes ved Forsøg med »mine-

ralske« Substrater. Resultaterne maa dog siges at ligge meget nær hinanden.

Den totale Sølvmængde har været meget stor 1,3—1,5 · $10^{\div 3}$ molær, og der har saaledes været rigelige Depoter til at dække Forbruget af Sølvjon.

Af B_1 (Nr. 5) ses, at Kaliumjodid hæmmer noget, naar Koncentrationen stiger ca. 1,3 · $10^{\div 3}$ m.

Medens det ved Undersøgelserne paa »mineralske« Substrater kun var muligt at undersøge enkelte Bakterier, frembyder dette Substrat Muligheden for at prøve andre.

Ved Forsøg med Bact. tyfi fandtes ganske samme Værdier som fandtes for Bact. coli K.

Ved Undersøgelse af en Stamme Stafylococcus aureus lykkedes det ikke at bestemme den mindste Sølvjonkoncentration, der kunde hæmme, idet selv den største af de anvendte Koncentrationer var ude af Stand til at hæmme. Det er ikke sandsynligt, at man kan opnaa et brugbart Resultat ved at fremstille Substrater med større Sølvjonkoncentration ved Hjælp af AgJ og KJ, da Sølvjonkoncentrationen derved vilde blive endnu mindre konstant. Derimod vil man muligvis ved Substrater tilsat AgBr og KBr opnaa ret konstante Sølvjonkoncentrationer i Omraadet $10^{\div 9,5}$ — $10^{\div 11,5}$, idet Opløselighedsproduktet for AgBr angives til 5 · $10^{\div 13}$.

Ved Undersøgelser med Bact. proteus laa de største Sølvjonkoncentrationer lige ved Grænsen; det var derfor ikke muligt at opnaa noget nøjagtigt Resultat. Jeg vil dog alligevel anføre Resultaterne, idet de viser den Betydning, Faldet af Sølvjonkoncentrationen under Vækstforsøgene har.

Resultaterne, der er opført i Tab. XII, viser efter 24 Timer Vækstthæmning i nogle af Kulturerne, men efter yderligere 24 Timer er der endogsaa rigelig Vækst i disse Glas. Dette Resultat kan antageligt forklares ved det store Fald af Sølvjonkoncentration, der er foregaaet under Forsøget (fra 1,6 · $10^{\div 11}$ til 0,4 · $10^{\div 11}$). Endvidere kan man af de fundne Værdier slutte, at en konstant Sølvjonkoncentration paa ca. 1,6 · $10^{\div 11}$ vil kunne hindre Vækst af Bact. Proteus.

Tabel XII.

B^1 Nr.	cAg+ straks	Vækst efter 24 T.	cAg+ efter 24 T.	Vækst efter 48 T.	cAg+ efter 48 T.	B^2 Nr.	cAg+ straks	Vækst efter 24 T.	cAg+ efter 24 T.	Vækst efter 48 T.	cAg+ efter 48 T.
1	$10 \div 11$	++		++	$0{,}6 \cdot 10 \div 11$	1	$1{,}6 \cdot 10 \div 11$	÷	$1{,}4 \cdot 10 \div 11$	++	
2	$0{,}6 \cdot 10 \div 11$	++	$0{,}5 \cdot 10 \div 11$	++		2	$1{,}6 \cdot 10 \div 11$	÷		++	$0{,}4 \cdot 10 \div 11$
3	$0{,}3 \cdot 10 \div 11$	++		++	$0{,}2 \cdot 10 \div 11$	3	$1{,}2 \cdot 10 \div 11$	÷		++	$0{,}4 \cdot 10 \div 11$
4	$0{,}6 \cdot 10 \div 12$	++		++	$0{,}5 \cdot 10 \div 12$	4	$0{,}8 \cdot 10 \div 11$	++	$0{,}7 \cdot 10 \div 11$	++	
5	$1{,}1 \cdot 10 \div 13$	++		++	$1 \cdot 10 \div 13$	5	$0{,}6 \cdot 10 \div 11$	++		++	$0{,}3 \cdot 10 \div 11$
						6	$0{,}4 \cdot 10 \div 11$	++	$0{,}3 \cdot 10 \div 11$	++	

Resultaterne af Væksthæmningsforsøg med B proteus ved Tilsætning af $AgNO_3$ til Substraterne B_1 og B_2 indeholdende KJ.

Tabel XIII.

Substrat	Vatprop-per med parafin Vaselin	Kulturen anbragt lodr.	Kulturen anbragt vandr.	Natrium Tiosulfat molær	Mindste Mængde $AgNO_3$ der hæmmer eft. 24 Tim.	Mindste Mængde $AgNO_3$ der hæmmer eft. 48 Tim.	Mindste Mængde $AgNO_3$ der hæmmer eft. 96 Tim.	cAg+ som hæmmer efter 24 T.
M II	÷	±		$5 \cdot 10 \div 3$	$4000 \cdot 10 \div 7$	$4000 \cdot 10 \div 7$	$4000 \cdot 10 \div 7$	$0.16 \cdot 10 \div 11$
L 6.9	÷	+		$5 \cdot 10 \div 3$	$5000 \cdot 10 \div 7$	$5000 \cdot 10 \div 7$	$5000 \cdot 10 \div 7$	$0.30 \cdot 10 \div 11$
» »	÷		+	$5 \cdot 10 \div 3$	$5000 \cdot 10 \div 7$	$7000 \cdot 10 \div 7$		$0.30 \cdot 10 \div 11$
» »	+		+	$5 \cdot 10 \div 3$	$3000 \cdot 10 \div 7$	$3000 \cdot 10 \div 7$		$0.12 \cdot 10 \div 11$
» »	÷		+	$5 \cdot 10 \div 3$	$3000 \cdot 10 \div 7$	$8000 \cdot 10 \div 7$		$0.12 \cdot 10 \div 11$
» »	+		+	$5 \cdot 10 \div 3$	$3000 \cdot 10 \div 7$	$3000 \cdot 10 \div 7$	$8000 \cdot 10 \div 7$	$0.12 \cdot 10 \div 11$

Resultaterne af Væksthæmningsforsøgene ved Tilsætning af $AgNO_3$ til Substratet L + $Na_2S_2O_3$ (med Anvendelsen af den ny Dyrkningsteknik).

(med Anvendelse af den ny Dyrkningsteknik.)

1 taget fra Tab. X 1.

2 Forsøg foretaget ganske som 1 men med Substrat L.

3-6 Forsøg foretaget med Kulturene dyrket i vandret Stilling dels med vaselinparafineret Prop dels med almindelig Vatprop.

Jeg vil nu gaa over til Omtalen af de Forsøg, jeg har foretaget med den senere udformede Teknik, og vil først meddele de Forsøg, hvor jeg har anvendt Natriumsølvtiosulfat for derved at vise Overensstemmelsen mellem Resultaterne ved de to Metoder.

Det er allerede nævnt, at Substrat M II og L er af ret ens Sammensætning, saaledes at den væsentlige Forskel mellem Forsøgene er den større »Renhed« i Betingelserne, dels ved Anvendelsen af Udsæd fra en »syntetisk« Kultur, hvorved der kommer mindre sølvbindende Stoffer, dels ved Anvendelsen af Jena-violex-Glas. Endelig er de fleste Kulturer dyrket i vandret Stilling, idet der dog ogsaa er foretaget Forsøg med Glasset i lodret Stilling. Disse sidste svarer i Virkeligheden helt til de tidligere foretagne Forsøg.

Tabel XIII omfatter Forsøg, der svarer til de tidligere, og til Sammenligning er der anført et af Forsøgene fra Tabl. X.

Man ser, at Resultaterne efter de to Metoder stemmer helt overens efter 24 Timer. Efter 48 Timer viser der sig et ejendommeligt Forhold, idet de lodrette Glas og de vandrette, der har været tillukket med Vaselin-Parafinpropper, viser stadig Overensstemmelse med de tidligere Forsøg, derimod er der kommet Vækst i flere Kulturer i de vandrette Glas, hvor Proppen ikke har været mættet med Vaselinparafin. Efter 4 Dage findes der kun Overensstemmelse mellem de lodrette Kulturer og det Forsøg fra Tabl. X. Alle de andre viser Vækst i Glas tilsat mere $AgN0_3$. Der er ingen anden rimelig Forklaring paa dette Forhold, end at en Del af Sølvforbindelserne reduceres under Indvirkning af Luften; herved bliver Sølvjonkoncentrationen mindre, og Bakterierne kommer derfor i Vækst.

Dette giver ogsaa Forklaringen paa de ejendommelige Vækstkurver, disse Forsøg viser, saaledes som det er afbilled paa Fig. X (S. 84). Kurverne stammer fra de Forsøg, hvor Glassene var forsynet med Vaselin-Parafinpropper.

Man ser, at det første Stykke af Kurven ganske svarer til Forløbet af de Vækstkurver, der faas fra Forsøg, hvor Hæmningen med Natriumbenzoat undersøges i Bouillon. Derefter danner Kurven et Plateau, indtil den senere Stigning efter 48

Timer. Denne Stigning falder altsaa sammen med det Tidspunkt, hvor der ogsaa kommer Tegn paa formindsket Hæmning i de Kulturer, hvormed man søger at bestemme den absolutte Hæmning. Hele dette Forhold svarer for øvrigt ganske til det, der fandtes ved Forsøgene med kolloid AgJ, blot var de der endnu mere udtalt.

Det ses, at mine første Forsøgsresultater absolut er lige saa anvendelige som de, der er opnaaet med den senere udformede Teknik. Man vilde endda kunne hævde, at de første Resultater var bedre definerede. Dette er ogsaa Tilfældet, men den ny Teknik aabner større Muligheder for yderligere Forsøg.

Resultaterne viser, at man maa stille yderligere Fordringer til Tekniken; for det første maa Glassene lukkes med Vaselin-Parafinpropper, hvis Forsøgene udstrækkes udover 24 Timer, og ihvertfald maa Forsøgene altid slutte efter 48 Timer. Overholdes disse Betingelser, er Resultaterne fuldt tilfredsstillende. At man yderligere faar en god Støtte ved Vurderingen af Resultaterne ved Vækstkurverne ses tydelig af de anførte Forsøg. Medens det, som anført, ved de tidligere Forsøg var sikkert at aflæse Resultaterne efter 48 Timer, vil det ved Anvendelsen af Nephelometeret være muligt at bestemme Resultatet helt efter 24 Timer. Paa dette Omraade adskiller disse Forsøg sig fra Undersøgelserne over Natriumbenzoat, hvor det endelige Resultat først kan aflæses efter flere Dage.

Efter saaledes at være blevet klar over Metodens Anvendelighed, vil jeg omtale nogle Forsøg til yderligere at belyse Sølvjonens Virkning.

Først har jeg undersøgt Betydningen af Tilsaaningens Mængde og fundet, at selv en Variation fra 1 Draabe til 1/100 000 Dr. 20 Timers Kultur ikke gav nogen Forskel i Resultatet.

Jeg vil dernæst omtale nogle Forsøg, der belyser et vigtigt Forhold. Ved alle de hidtil omtalte Forsøg har Substratets Brintjonkoncentration ligget lige ved Neutralpunktet; i disse har jeg varieret dennes Størrelse. Som det er vist ved Maalingerne af Sølvjonkoncentrationen (se Tabl. VI), bevirker en Forandring af pH indenfor det »biologiske« Omraade ingen Forandring i Ligevægten mellem Sølvjon og Tiosulfatkomplexet. Det er der-

for muligt at undersøge, om samme Sølvjonkoncentration paavirker Bakterierne ens, saafremt de befinder sig i Substrater med forskellig pH.

Resultaterne af saadanne Forsøg er opført i Tab. XIV, hvor de 3 første Forsøg stammer fra de tidligere Forsøg, og de her anvendte Substrater er brugt til de omtalte Maalinger af Sølvjonkoncentrationen (se Tab. VI).

Tabel XIV.

Substrat	pH	Bakterie	Natrium-tiosulfat mol.	Mindste Mængde $AgNO_3$ der hæmmer 24 T.	cAg+ beregnet
M II	7.2	Bck	$5 \cdot 10^{-3}$	$4000 \cdot 10^{-7}$	$0.16 \cdot 10^{-11}$
M II	7.8	„	„	$2000 \cdot 10^{-7}$	$0.08 \cdot 10^{-11}$
M II	8.8	„	„	$1000 \cdot 10^{-7}$	$0.04 \cdot 10^{-11}$
L	6.2	BcP	„	$7000 \cdot 10^{-7}$	$0.50 \cdot 10^{-11}$
L	6.8	„	„	$5000 \cdot 10^{-7}$	$0.30 \cdot 10^{-11}$
L	7.4	„	„	$2000 \cdot 10^{-7}$	$0.08 \cdot 10^{-11}$
L	8	„	„	$1600 \cdot 10^{-7}$	$0.06 \cdot 10^{-11}$

Resultaterne af Vækstthæmningsforsøg, hvor Reaktionen af Substratet er varieret.

1-3 Med Anvendelse af den tidligere Teknik, Sølvjonmaalinger svarende til Forsøgene i Tabel 6.

4-7 Med Anvendelse af den ny Teknik.

Af Tabellen fremgaar det meget tydeligt, at Bakterierne bliver meget mere følsomme for Sølvjonerne, naar de befinder sig i et let alkalisk Substrat, et Forhold, som det ellers er meget vanskeligt at paavise. *Ørnstein*[85]) har søgt at vise det ved Desinfektionsforsøg, men under meget mindre veldefinerede Omstændigheder, end det her er lykkedes mig at frembringe.

Endelig har jeg undersøgt, hvorledes forskellige andre Bakterier blev paavirket af Sølvjonerne. Disse Undersøgelser er udført i den første Forsøgsrække, idet der af de senere Forsøg kun er anført Virkningen paa den her anvendte B. c. P.

Tabel XV.

	Bakterie	Mk.	Næringssubstrat	Mindste Mængde $AgNO_3$ der hæmmer	cAg+ (beregnet)
1	Bact. coli	K.	M II, 0,005 mol. m. H. t. $Na_2S_2O_3$	$4000 \cdot 10^{-7}$	$0{,}16 \cdot 10^{-11}$
2	Bact. coti	A.		$4000 \cdot 10^{-7}$	$0.16 \cdot 10^{-11}$
3	Bact. coli	J.		$8000 \cdot 10^{-7}$	$0.56 \cdot 10^{-11}$
4	Bact. prodigiosus			$8000 \cdot 10^{-7}$	$0.56 \cdot 10^{-11}$
5	Bact. proteus			$16000 \cdot 10^{-7}$	? $5 \cdot 10^{-11}$
6	Bact. coli	BcP.	L+$Na_2S_2O_3$ $5 \cdot 10^{-}$ m	$4000 \cdot 10^{-7}$	$0{,}16 \cdot 10^{-11}$

Undersøgelser over Vækstthæmningen af forskellige Bakterier i syntetiske Substrater indeholdende Natriumtiosulfat efter Tilsætning af $AgNO_3$.

Som man ser af Tab. XV ligger den Koncentration af Sølvjonen, der fremkalder Hæmningen, ret ens for alle disse Bakterier; kun B proteus fordrer en Del mere. Et Forhold, der maaske nok noget er afhængigt af B proteus Evne til at danne H_2S af Tiosulfat[115]).

Til Slut vil jeg omtale de Forsøg, jeg har foretaget med Substrat S. Medens Substrat MII og L kun afveg lidt fra hinanden, er der meget stor Forskel paa Substrat MIII og S. Substrat S er et udmærket Næringssubstrat for den anvendte Bakterie; det indeholder ingen Klorjoner eller Aminosyre, hvorfor det ved neutral eller let sur Reaktion reagerer meget lidt med Sølvsalt. Det er derfor velegnet til at studere den vækstthæmmende Virkning af ikke komplexe Sølvsalte; især kunde det tænkes, at man ved Anvendelsen af dette Substrat kunde faa nogen Oplysning om den absolutte Mængde Sølv, der medgaar ved Hæmningen.

Resultaterne af disse Forsøg har været en Skuffelse, idet det ikke lykkedes at finde en Fremgangsmaade til at opnaa veldefinerede Forsøgsresultater. Ligesom ved Forsøgene med MII og MIII lykkedes det ikke at finde en bestemt Tidsfrist, der gav et sikkert, reproducerbart Udtryk for Hæmningen. Ogsaa Bestemmelsen af den Koncentration, der giver ubegrænset Hæmning viste sig at være et daarligt Udtryk for Hæmningen.

Heller ikke Maalingerne af Vækstkurven gav nogen Oplysning, da Vækstens Hastighed altid er ens; kun Latenstiden er forskellig.

Det mest ejendommelige ved Forsøgene er Paavisningen af det Forhold, at endnu en Koncentration $1/6 \cdot 10^{\div 9}$ m giver udtalt Hæmning i de første 10 Timer, medens en Koncentration $1/6 \cdot 10^{\div 7}$ m ikke kan hæmme Væksten i 24 Timer og først $1/6 \cdot 10^{\div 5}$ m hindrer Væksten udover 48 Timer. Ved Spredning paa Agar, ser man, at den sidste Koncentration ogsaa har dræbt Bakterierne paa 48 Timer. Dette er Grunden til, at man ikke kan anvende langvarige Forsøg til Bestemmelsen af Væksthæmningen under disse Forhold.

Jeg har ogsaa undersøgt Betydningen af Tilsaaningsmængden. Da det drejer sig om saa overordentlig smaa Mængder $AgN0_3$ (c. 0,001 mg i en Kultur) kunde man vente, at Bakteriemængden her maatte spille en større Rolle end i de Forsøg, hvor andre Stoffer er anvendt til Hæmningen. For den absolutte Hæmning synes dette dog ikke at være Tilfældet, saalænge man ikke anvender saa store Mængder Bakterier, at Forsøget taber Karakteren af et Væksthæmningsforsøg.

Jeg har kun gennemgaaet disse Forsøg i Korthed, da jeg ikke mener, man kan tillægge dem større Betydning, ligesom jeg heller ikke mener, at dette Spørgsmaal kan belyses yderligere ved den anvendte Undersøgelsesmetode; først ved videre Forbedring af Tekniken vil man kunne klarlægge disse Forhold.

Jeg vil nu søge at sammenfatte, hvad man af Forsøgene kan slutte om Sølvsaltenes væksthæmmende Virkning.

Af de beskrevne Forsøg ses, at den Mængde $AgN0_3$, der skal sættes til 5 cm^3 af et Næringssubstrat for at give Væksthæmning, er overordentlig forskellig (fra $4 \cdot 10^{\div 7}$ m til mere end $30000 \cdot 10^{\div 7}$ m) og er tydelig betinget af de i Substratet værende Stoffers Evne til at binde Sølvet. Af Forsøgene kan man ikke slutte, at en bestemt Sølvjonkoncentration er den afgørende Faktor, der betinger om en Bakterie kan vokse eller ej. Ved nærmere Betragtning af de Processer, der maa antages at foraarsage Væksthæmningen, kan man skelne mellem 3 Faktorer, som øjensynlig bestemmer Hæmningen.

1) Der maa være en saa stor Sølvjonkoncentration i Substratet, at Sølvet kan reagere mod Bakterierne i tilstrækkelig Grad.

2) Der maa være en vis Mængde Sølv, som indenfor en bestemt Tid kan optages i Bakterierne. (Denne Mængde viser sig at være større end den under 1 omtalte Sølvjonkoncentration).

3) Saafremt ikke alt i Substratet værende Sølv er dissocieret, maa der være saa meget Sølv, at 1) og 2) kan opfyldes.

Af disse Størrelser maa den første siges at være af størst Betydning, idet den mindste Sølvjonkoncentration, der kan fremkalde Væksthæmning, maa være den afgørende Faktor for Bestemmelse af Sølvets Giftighed overfor en bestemt Bakterie. F. Eks. vil den derfor være af afgørende Betydning for Retningslinjerne ved al Sølvtherapi.

Den anden Størrelse, som angiver den Mængde Sølv, der skal til for at hindre en Bakteries Vækst, har noget mindre Betydning, da man under alle Vækstbetingelser for Bakterierne maa overskride denne Størrelse betydeligt.

Efter Neergaards Undersøgelser er denne Mængde ved Desinfektionsforsøg meget afhængig af Bakterieantallet; dette synes dog ikke at være Tilfældet ved egentlige Væksthæmningsforsøg. Iøvrigt er denne Størrelse antagelig heller ikke konstant, men i nogen Grad afhængig af den cAg^+, hvori Processen foregaar, idet hver enkelt Bakterie vil binde mere Sølv end nødvendigt, naar Sølvjonkoncentrationen er stor.

Den sidste Faktor er den, man ved Hæmningsforsøgene umiddelbart bestemmer, men hvoraf man ikke uden yderligere Maalinger kan slutte noget om Sølvets Giftighed. Dens Størrelse afgøres af rent kemiske Forhold, naar man kender de forrige Faktorer. Den er afhængig af Forholdet mellem Sølvjonkoncentration og total Sølv og af det bundne Sølvs Evne til atter at afgive Sølvjoner samt Hastigheden, hvormed dette foregaar.

Ser man paa dette Grundlag paa Forsøgene, forstaar man, hvorfor de Sølvjonkoncentrationer, der kan fremkalde Væksthæmning, er forskellige i de forskellige Substrater til Trods for, at Sølvjonen, saaledes som Forsøgene viser det, er den eneste Faktor, som bevirker Giftigheden.

I de æggehvidefri Substrater bevirker selv den nødvendige Sølvmængde en ret stor Sølvjonkoncentration.

I de peptonholdige Substrater er Sølvjonkoncentrationen meget mindre, men kan antagelig ikke naa saa lave Værdier som i de sidste Grupper paa Grund af den langsomme Fornyelse af Sølvjonerne.

I de natriumtiosulfatholdige Substrater og de Substrater, der indeholder JK + AgJ, vil de fornødne Sølvjoner meget hurtigt være til Disposition, saaledes at den mindste Sølvjonkoncentration, der i det hele taget kan binde tilstrækkeligt Sølv til Bakterierne, vil kunne frembringe Væksthæmning.

RESUMÉ

Jeg har først søgt at give en Fremstilling af Udviklingen af de Spørgsmaal indenfor Desinfektionslæren, som er af Betydning ved Vurderingen af Væksthæmningsforsøg. Særlig har jeg omtalt de Undersøgelser, der søger at definere den Paavirkning Bakterierne udsættes for.

Paa Grundlag heraf og efter yderligere Overvejelser har jeg samlet de Betingelser, jeg mener man maa stille til Væksthæmningsforsøg for at faa Resultater, der kan danne et Udgangspunkt til Forklaring af de biologisk-kemiske Processer, der fremkalder Hæmningen.

Inden jeg er gaaet over til de egentlige Forsøg, har jeg fremhævet Nødvendigheden af at kende den uhæmmede Vækst paa de Substrater, man anvender. Jeg har omtalt de tidligere Undersøgelser paa dette Omraade og har derefter udformet en Metode til Maaling af Bakteriernes Vækst i en flydende Kultur. Med denne Metode har jeg maalt den benyttede Bakteries Vækst i alle de anvendte Substrater. Jeg har derved faaet Lejlighed til at vise, at Væksten i gode syntetiske Substrater ikke afviger meget fra Væksten i Bouillon.

Ved Omtalen af Væksthæmningen har jeg vist, at der er to Hovedopgaver. Den første bestaar i en nøje Undersøgelse af Dyrkningssubstratet, efter at det hæmmende Stof er tilsat. Det drejer sig her særlig om at kende Koncentrationen af de Faktorer, som man kan tænke sig er medvirkende ved Hæmningen; dernæst om at vide, om Substratets Egenskaber som Næringssubstrat er ændret. Den anden Opgave er Iagttagelsen af selve Væksthæmningsforsøget.

Den første Opgave løses lettest ved Anvendelsen af »syntetiske« Næringssubstrater; kun i nogle Tilfælde kan den ogsaa løses i meget komplicerede Substrater. Jeg gennemgaar derfor nøje, hvorledes man skal vælge de Substrater, man vil anvende.

Den anden Opgave er ikke saa enkelt, som man paa Forhaand venter sig. Jeg fremhæver de store Vanskeligheder, der ligger i Afgørelsen af, hvorvidt en Kultur er fuldstændig hæmmet i sin Vækst ved den Paavirkning, man har udsat den for. Jeg viser derfor, hvorledes Maaling af den delvis svækkede Vækst ofte kan give Oplysninger om, hvorledes det endelige Resultat skal bedømmes.

Efter denne almene Gennemgang af Vækstthæmningen har jeg omtalt Resultaterne af de Forsøg, hvor jeg har søgt at udrede de nærmere Forhold under Processen.

Jeg har undersøgt Natriumbenzoatets hæmmende Virkning og har vist, at denne fremkaldes af den udissocierede Benzoesyre, der altid maa findes i en Opløsning af Benzoat. Jeg finder, at den mindste Koncentration af udissocieret Benzoesyre, der kan fremkalde Hæmning, ligger ganske nær $10^{\div 4}$ molær, medens den samlede Benzoatmængde er uden Betydning. Et Forhold, der dog kun gælder, saafremt pH er mindre end 7.3. Jeg har yderligere vist, at Næringssubstratets Art ikke spiller nogen væsentlig Rolle, ligesom Antallet af Bakterier, hvormed man tilsaar, heller ikke indvirker paa Resultatet.

Ved Undersøgelse af Sølvsaltenes Virkning viser jeg, at det er Sølvjon, der fremkalder Hæmningen. Jeg viser, at dette Spørgsmaal er meget kompliceret og kun kan løses ved Fremstilling af Substrater indeholdende Stoffer, som hele Forsøgstiden kan vedligeholde en veldefineret Sølvjonkoncentration uafhængig af om Næringssubstratets øvrige Stoffer reagerer med Sølvjonerne. Det lykkedes mig at fremstille saadanne Substrater, saaledes at jeg har bestemt baade den Sølvjonkoncentration, der hæmmer Væksten i et syntetisk Substrat og den, der er nødvendig for at hindre Væksten i Kødvandspeptonbouillon. Ogsaa i disse Tilfælde viser Forsøgene, at Substratets Art kun spiller en ringe Rolle, hvorimod jeg finder, at Brintjonkoncentrationens Størrelse indvirker ret stærkt paa Resultatet.

LITTERATURFORTEGNELSE

1) Den historiske Oversigt hviler, hvor intet særligt er fremhævet, paa følgende Arbejder:
   a) *Abel, Rudolf:* Ueberblick über die geschichtliche Entwickelung der Lehre von der Infektion, Immunitet und Profylaxe.
   Kolle, W. og *v. Wassermann, A.:* Handbuch der patogene Mikroorganismen. Bind *1* Sl., dels 2. Aufl. Jena 1913; dels 3. Aufl. Jena, Berlin, Wien 1927.
   b) *Gotschlich, E:* Desinfektionslehre; samme Sted Bind 3, S. 443 (2. Aufl.).
   c) *Burgi, Emil:* Chemische Desinfektionslehre; samme Sted Bind 3, S. 543 (2. Aufl.).
   d) *Grassberger, R.:* Die Desinfektion, i Rubner, M., v. Gruber, M., Ficker, M.: Handbuch der Hygiene. B. III, 1. Abt., S. 363. Leipzig 1913.
2) *Koch, Robert:* Mitt. v. d. kais. Gesundheits Amt. 1881, S. 234.
3) *Needham:* An account of some new microscopical discoveries. London 1745. Cit. efter Pasteur[9]), S. 212.
4) *Spallanzani:* Opuscules de physique, animale et vegetale (traduits de l'Italien par J. Senebier. Genève 1777. Cit. efter Pasteur[9]), S. 213.
5) *Appert:* L'art de conserver pendant plusieur annes toutes les substances animales et vegetales. Paris 1810. Cit. efter Pasteur[9]), S. 216.
6) *Schulze, F.:* Annalen d. Physik u. Chemie. *39*, 487, *1836*. Cit.: Pasteur[9]), S. 219.
7) *Schwan, Th.:* Annalen d. physik u. Chemie. *41*, 184, *1837*. Cit.: Pasteur, S. 217.
8) *Schroeder, H.:* Annalen d. Chemie u. Pharmacie. *89*, 303, 1854, *109*, 35, 1859. Cit.: Pasteur[9]), S. 220.
9) *Pasteur, L.:* Fra »Oeuvres de Pasteur« Pasteur Valleruy-Radot. Paris 1922. Bind II, S. 210.
10) *Petersen, Julius:* Koleraepidemier. København 1892.
11) *Mansa, F. B.:* Pesten i Helsingør og København 1710—11. København 1854.
12) *Mansa, F. B.:* Bidrag til Folkesygdommenes og Sundhedsplejens Historie i Danmark. København 1873.
13) *Runge:* Annalen d. Physik u. Chemie. 1834. Cit.: Bucholtz[15]).
14) *Lemaire:* De l'acide phenique de son action sur le vegetaux. Paris 1865. Cit.: Bucholtz[15]).
15) *Bucholtz, L.:* Arc. f. experim. Pat. und Pharm. *4*, S. 1. 1874.
16) *Barker:* Brit. med. Journ. 1866. Cit.: Wernich[18]), S. 157.

17) *Dougal:* Medic Times and Gaz. 1872. Hefte 4. Cit.: Wernich[18]), S. 161.
18) *Wernich, A.:* Grundriss d. Desinfektionslehre. S. 153. Wien og Leipzig 1880.
19) *Geppert, J.:* Berlin. klin. Wochenschr. 1889. S. 789, 819.
20) *Geppert, J.:* Berlin. klin. Wochenschr. 1890, 246.
21) *Geppert, J.:* Berlin. klin. Wochenschr. 1891, 1065.
22) *V. Behring:* Gesammelte Abhandlungen zur ätiologischen Terapi von ansteckenden Krankheiten. Leipzig 1893.
23) *v. Behring:* Bekampfung der Infektionskrankheiten. Leipzig 1894.
24) *Paul, Th.* und *Kroenig, B.:* Zeitschr. f. Hyg. *25*, S. 1, 1897.
25) *Paul, Th.* und *Kroenig, B.:* Zeitschr. f. Physikalischer Chemie. *21*, 414, 1896.
26) *v. Esmarch, E.:* Zeitschr. f. Hyg. *5*, 67, 1889.
27) *Madsen, Th.* og *Nymann:* Zeitschr. f. Hyg. *57*, 388, 1907.
28) *Ikeda, K.:* Zeitschr. f. Hyg. *25*, S. 95, 1897.
29) *Eijkmann, C.:* Biochem. Zeitschr. *11*, S. 12, 1908.
30) *Reichel, H.:* Biochem. Zeitschr. *22*, 149, 1909.
31) *Chick, H.:* Journ. of Hyg. *8*, 92, *10*, 237, 1910.
32) *Paul, Th.:* Biochem. Zeitschr. *18*, S. 1, 1909.
33) *Reichenbach, H.:* Zeitschr. f. Hyg. *69*, 171, 1911.
34) *Reimann* og *Nymann:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *58*, S. 339, 1911.
35) *Reichel, H.:* Entkeimung, i Kraus und Uhlenhuth: Handbuch der mikro-biologischen Technik. B. I, S. 437. Cit.: S. 490. Berlin, Wien 1924.
36) *Gregersen, J. P.:* C. f. Bakteriol. Ab. I. Orig. 77, 168, 1916.
37) *Naegali, V.:* Denkschr. d. allg. schweizerischen Ges. f. d. gesamt. Naturw. 33. Abt. I. 1893. Cit. efter Saxl[39]).
38) *Freundlich, H.* og *Søllner, K.:* Biochem. Zeitschr. *203*, S. 3, 1928.
39) *Saxl, Paul:* Die oligodynamische Wirkung der Metalle und Metallsalze. Wien 1924.
40) *Jensen, K. A.:* Zeitschr. f. Hyg. *105*, 271, 1925.
41) *Løhner, L.:* Wien. klin. Wochenschr. 1919, S. 911. Cit. efter Jensen[40]).
42) *Uffelmann, J.:* Berlin. klin. Wochenschr. 1891, S. 857.
43) *Boer, Oskar:* Zeitschr. f. Hyg. *9*, S. 479, 1890.
44) *Arens:* Münch. med. Wochenschr. *1893*, S. 190.
45) *Dieudonné, A.:* C. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. *50*, S. 107, 1909.
46) *Eisenberg, Ph.:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *71*, S. 420, 1913.
47) *Sartorius, Fr.:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *107*, S. 134, 398, 1928.
48) *Jensen, K. A.:* Undersøgelser over Colibacillens normale Vækstforhold. Disp. København 1927.
49) *Conradi* og *Troch:* Münch. med. Wochenschr. 1912, 1652.
50) *Muller, L.:* C. R. Soc. d. Biol. *89*, 434, 1923.
51) *Schnitzer, R.:* Methodik der Chemotherapie bacterielle Infektionen, i Abderhalden, E.: Handbuch der biologischen Arbeitsmetoden. Abt. 8. 2. Del, S. 115. Berlin, Wien 1926.

52) *Schlossberger, H.:* Arbeitsmetoden der expm. Chemotherapie, i Kraus und Uhlenhut: Handbuch der mikrobiologischen Teknik. b III, S. 2225. Berlin, Wien 1924.
53) *Ehrlich, P.* og *Bechhold:* Zeitschr. f. physical. Chemie. B. *47*, 173, 1906.
54) *Eisenberg, Ph.:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *82*, 69, 1919.
55) *v. Linden:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *85*, 136, 1921.
56) *Iwanoff, J. S.:* C. f. Bacteriol. Abt. II. *13*, 139, 1904.
57) *Eisenberg, Ph.* og *Okolska, M.:* C. f. Bacteriol. Abt. i Orig. *69*, 1913, S. 312.
58) *Jaenicke:* Fortschr. d. Med. 1890, S. 460.
59) *Churchmann, J. W.:* Jour. of exp. Med. *16*, 221, 1912.
60) *Kuroya, M.:* Scientific Report from the Governement Institue for infect. Diseases *4*, 107, 1925.
61) *v. Neergaard, K.:*
a) Arc. f. exp. Pat. und Pharm. *100*, 162, 1923.
b) Arc. f. exp. Pat. und Pharm. *107*, 316, 1925.
c) Arc. f. exp. Pat. und Pharm. *108*, 295, 1925.
d) Arc. f. exp. Pat. und Pharm. *109*, 143, 164, 1925.
e) Arc. f. exp. Pat. und Pharm. *110*, 103, 1925.
62) *Scheurlen* og *Spiro:* Münch. med. Wochenschr. 1897, S. 81.
63) *Vermast, P. G. F.:* Biochem. Zeitsch. *125*, 106, 1922.
64) *Kuroda:* Biochem. Zeitsch. *169*, 281, 1926.
65) *Watermann, H. J.* og *Kniper, P.:* Zentralbl. f. d. ges. Hygiene. (Ref.) *12*, 426, 1926.
66) *Scheurlen:* Arc. f. expm. Pat. und Pharm. *37*, 74, 1896.
67) *Traube, J.:* Zeitsch. f. Imm. *29*, 286, 1920.
68) *Christiansen, Johanne:* Zeitsch. physiol. Chemie. *102*, 273, 1918.
69) *Hendrixson, W. S.:* Zeitsch. f. anorg. Chemie. *13*, 73, 1897.
70) *Cahn-Bronner:* Zeitsch. f. Imm. Orig. *33*, 375, 1921.
71) *Roos:* Zeitsch. f. Imm. *15*, 487, 1912.
72) *Pasteur, L.:* Cit. Kraus og Uhlenhut: Handb. d. mikrobiol. Teknik. B. I, S. 586.
73) *Cohn, F.:* Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. I. 1872. Cit.
74) *Fraenkel, C.:* Hyg. Rundschau. 4 og 5. 1894—95. Cit.: Kraus und Uhlenhut: Handb. d. mikrobiol. Teknik. B. I, S. 587.
75) *Uschinsky:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *14*, 316, 1893.
76) *v. Eisler, M.:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *83*, 353, 1919.
78) *Wichmann, F. W.:* Arbeit aus d. Staatsinstitut f. expm. Therapi. Frankfurt a/M. Hefte 21, S. 362, 1928.
79) *Falk, J. S.:* Abstract of Bacteriol. *8*, 33, 1923.
80) *Hailer:* Arbeit aus d. kais. Reich Gesundh. Amt. *36*, 297, 1910. Cit.: S. 301.

81) *Braun* og *Medarbejdere:* Undersøgelser over syntetiske Næringssubstrater.

a) *Braun, H.* og *Cahn-Bronner:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *86,* S. 1, 380, 1921.

b) *Braun, H.* og *Cahn-Bronner:* Biochem. Zeitsch. *131,* S. 226.

c) *Braun, H.* og *Goldschmidt, R.:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *101,* S. 283.

d) *Braun, H.* og *Goldschmidt, R.:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *101,* S. 330.

e) *Braun, H.* og *Mündel, Fr.:* C. f. Bacteriol. Abt. I. Orig. *103,* S. 182.

Følgende Arbejder, som ikke direkte er omtalt i mine Undersøgelser, belyser yderligere dette for Væksthæmningsforsøg saa vigtige Spørgsmaal:

Braun, H., Stomatelakis, A. og *Kondo Seigo:* Biochem. Zeitsch. *145,* S. 381, 1924.

Braun, H., Stomatelakis, A. og *Kondo Seigo, Goldschmidt, R.:* Biochem. Zeitsch. *146,* S. 573, 1924.

Kondo Seigo: Biochem. Zeitsch. *155,* S. 148, 1925.

Wolff, H.: Biochem. Zeitsch. *158,* S. 319, 1925.

Friedlein, F.: Biochem. Zeitsch. *194,* S. 273, 1928.

82) *Cramer, E.:* Arc. f. Hyg. *22,* 167, 1896. Cit.: S. 171.

83) *Joachimoglu, G.:* Biochem. Zeitsch. *134,* 489, 1922.

84) *Nagel:* Zeitsch. f. Hyg. *105,* 495, 1926.

85) *Ørstein, Otto:* Zeitsch. f. Hyg. *106,* 327, 1926.

86) *Michaelis, L.* og *Dernby:* Zeitsch. f. Imm. *34,* 194, 1922.

87) *Michaelis* og *Haychi, J.:* Zeitsch. f. Imm. *36,* 518, 1923.

88) *Bloch, E.* og *Schiff, T.:* Biochem. Zeitsch. *138,* 150, 1923.

89) *Browning* og *Guldbrandsen:* Brit. Jour. of exp. Pat. *2,* 95, 1921.

90) *Fleischer, L.* og *Amster, S.:* Zeitsch. f. Imm. *37,* 327, 1923.

91) *Schiemann, O.* og *Baumgarten, W.:* Zeitsch. f. Hyg. *97,* 247, 1923.

92) *Heckscher, H.:* Om Bakterietælling og Bacterium colis Vækst i flydende Substrater. Disp. København 1921.

93) *Ørskov, J.:* Investigations into the morphology of the Ray Fungy. Disp. København 1923.

94) *Wulff, F.:* Disp. København 1921. Undersøgelser over Meningococctyper.

95) *v. Angerer, Karl:* Arc. f. Hyg. *93,* 14, 1924.

96) *Dreyer, G.* og *Gardner, A. D.:* The biochemie Journ. *10,* 399, 1916.

97) *Hotchkiss, M.:* Jour. of Bacteriol. *8,* 141, 1923.

98) *Bechhold, H.* og *Reiner, R.:* Zeitsch. f. Imm. *96,* 1922.

99) *Munter Sussmann:* Zeitsch. f. Hyg. *106,* 50, 1926.

100) *Liese, W.:* Zeitsch. f. Hyg. *105,* S. 483, 1926.

101) *Vignanti, J.* og *Schnabel, P.:* C. f. Bacteriol. Abt. 1. Orig. *109,* S. 464, 475, 1928.

102) *Kolbe:* Jour. f. praktische Chemie. *10.* Cit.: Bucholtz[15]).
103) *Salkowsky:* Berlin. klin. Wochensch. 1875, Nr. 22.
104) *Lehmann, K. B.:* Chemiker Zeitung. *32,* 950, 1908.
105) *Miquel:* Ref. Jahresbericht über die Fortschritte der Chemie. *1884,* 1525.
106) *v. Behring:* Deut. med. W. *1887,* S. 805, 830.
107) *Paul, Th.:* Z. f. Elektrochemie. *18,* 521, 1912.
108) *Gjaldbæk, J. K.:* Om Betydningen af elektrometriske Maalinger ved farmaceutisk-kemiske Undersøgelser i Farmaceutisk Haandbog 1925.
109) *Schlee, L.:* Biochem. Zeitsch. *148,* 383, 1924.
110) *Møller, K. O.:* Hospitalstidende. S. 177, 1928.
111) *Andresen, P. H.:* C. f. Bacteriol. *105, 107,* 1928. Foreløbig Meddelelse af Dele af dette Arbejde samt i Dansk Tidsskrift for Farmaci. B I og II.
112) *Christiansen, Johanne:* Se 68).
113) *Gross, O.:* Arc. f. expm. Pat. und Pharm. *70,* S. 375, 1912.
114) *Tilley, F. W.:* J. of Bacteriol. *8,* 287, 1923.

VALD. PEDERSENS BOGTRYKKERI
KØBENHAVN